

**UNTERSUCHUNG DES  
TOXINBILDUNGSVERMÖGENS IN  
FUTTERMITTELN VORKOMMENDER  
FUSARIEN MIT PHYSIKALISCH-CHEMISCHEN  
UND BIOLOGISCHEN METHODEN**

Robert Wermter

1981





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548325\\_0040](https://archive.org/details/IA41548325_0040)



Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie  
Infektions- und Seuchenmedizin  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. DDr. h. c. A. Mayr

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau Prof. Dr. B. Gedek

UNTERSUCHUNG DES TOXINBILDUNGSVERMÖGENS IN FUTTERMITTELN  
VORKOMMENDER FUSARIEN MIT PHYSIKALISCH-CHEMISCHEN UND  
BIOLOGISCHEN METHODEN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

vorgelegt von  
Robert Wermter  
aus München

München 1980

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. B. Gedek

Korreferent: Prof. Dr. H. Zucker



Tag der Promotion: 27. Februar 1981

# Meiner Mutter



|            |                                                                            |    |
|------------|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.         | EINLEITUNG                                                                 | 1  |
| 2.         | SCHRIFTTUM                                                                 | 3  |
| 2.1.       | Systematische Stellung und Einteilung der Gattung <i>Fusarium</i> LINK     | 3  |
| 2.2.       | Vorkommen von Fusarien und Bedingungen der Kontamination von Futtermitteln | 11 |
| 2.3.       | Bildung bekannter Toxine durch Fusarien                                    | 14 |
| 2.4.       | Wirkungen von Fusarientoxinen in vivo                                      | 21 |
| 2.4.1.     | Allgemeine Angaben zur Angriffsweise der bekannten Toxine                  | 21 |
| 2.4.2.     | Spezielle Erkrankungen bei Nutztieren und beim Menschen                    | 25 |
| 2.4.2.1.   | Fusariotoxikosen des Schweines                                             | 25 |
| 2.4.2.1.1. | Hyperöstrogenismus                                                         | 25 |
| 2.4.2.1.2. | Futterverweigerung und Erbrechen (feed refusal and emesis)                 | 26 |
| 2.4.2.1.3. | Hämorrhagisches Syndrom                                                    | 27 |
| 2.4.2.2.   | Fusariotoxikose des Rindes - Schwingelgraslahmheit (fescue foot)           | 28 |
| 2.4.2.3.   | Fusariotoxikosen des Pferdes                                               | 29 |
| 2.4.2.3.1. | Leukoencephalomalazie                                                      | 29 |
| 2.4.2.3.2. | Bohnenhülsevengiftung                                                      | 30 |
| 2.4.2.4.   | Fusariotoxikosen des Geflügels                                             | 31 |
| 2.4.2.4.1. | Erkrankungen des Genitaltraktes                                            | 31 |
| 2.4.2.4.2. | Entzündungen der Mundhöhle                                                 | 32 |
| 2.4.2.4.3. | Neurale Störungen                                                          | 33 |
| 2.4.2.4.4. | Rachitische Veränderungen                                                  | 33 |
| 2.4.2.5.   | Experimentelle Fusariotoxikose bei Fischen                                 | 34 |
| 2.4.2.6.   | Fusariotoxikosen des Menschen                                              | 35 |
| 2.4.2.6.1. | Alimentäre toxische Aleukie (ATA)                                          | 35 |
| 2.4.2.6.2. | Kashin-Beck-Erkrankung (Urov's disease)                                    | 36 |
| 2.4.2.6.3. | Akakabi-Vergiftung (red mould disease, scab)                               | 36 |

|                                                                                       | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN                                                              | 43    |
| 3.1. Material und Methoden                                                            | 43    |
| 3.1.1. Herkunft der Fusarienstämmе                                                    | 43    |
| 3.1.2. Isolierung, Konservierung und Identifizierung                                  | 45    |
| 3.1.3. Untersuchung der Fusarienstämmе auf die Befähigung zur Bildung von Mykotoxinen | 45    |
| 3.1.3.1. Anreicherung im YES-Medium                                                   | 45    |
| 3.1.3.2. Extraktion der YES-Kulturen                                                  | 46    |
| 3.1.3.3. Untersuchung der Rohextrakte                                                 | 47    |
| 3.1.3.3.1. Physikalisch-chemisches Verfahren: Dünnschichtchromatographie              | 47    |
| 3.1.3.3.2. Biologische Verfahren                                                      | 50    |
| 3.1.3.3.2.1. Hauttoxizitätstest                                                       | 50    |
| 3.1.3.3.2.2. Zellkulturtest                                                           | 51    |
| 3.1.3.3.2.3. Hühnerembryotest                                                         | 55    |
| 3.2. Ergebnisse und deren Besprechung                                                 | 57    |
| 3.2.1. Differenzierung der untersuchten Fusarienstämmе                                | 57    |
| 3.2.2. Resultate der Dünnschichtchromatographie                                       | 57    |
| 3.2.3. Resultate des Hauttoxizitätstests                                              | 61    |
| 3.2.4. Resultate des Zellkulturtests                                                  | 64    |
| 3.2.5. Resultate des Hühnerembryotests                                                | 65    |
| 3.2.6. Gegenüberstellung der mit den verschiedenen Testverfahren erzielten Befunde    | 67    |
| 4. DISKUSSION                                                                         | 75    |
| 5. ZUSAMMENFASSUNG UND SUMMARY                                                        | 80    |
| 6. LITERATURVERZEICHNIS                                                               | 84    |

Lebenslauf

## 1. EINLEITUNG

Erkrankungen durch Toxine verschiedener Schimmelpilzarten bei Mensch und Tier sind schon lange bekannt. In den letzten Jahren werden jedoch bei Nutztieren vermehrt Vergiftungen mit Toxinen der Pilzgattung *Fusarium* festgestellt. Die Gründe dafür liegen unter anderem im bevorzugten Anbau von spätreifenden Pflanzen, wie z.B. Hybridmais, wodurch einerseits zwar erhebliche Ertragssteigerungen erzielt wurden, andererseits daraus aber eine erhöhte Infektanfälligkeit gegenüber Fusarien resultierte (PALYUSIK, 1977). Der Befall sowie auch die Produktion toxischer Stoffwechselprodukte geht in der Regel schon vor der Ernte der Pflanzen vor sich. Bei entsprechenden Klimaverhältnissen findet sie auch noch während der anschließenden Lagerung statt, so daß der Toxingehalt noch nach der Ernte weiter ansteigen kann. Die Kontamination anderer Rohstoffe der Nahrung mit Fusarien ist dabei nicht auszuschließen (BAUER und GEDEK, 1978). Die Toxine dieser primär pflanzenpathogenen Arten gehören chemisch vier Stoffklassen an und unterscheiden sich auch in ihren toxischen Wirkungen *in vivo*. Da zugleich ein Pilzstamm mehrere dieser Mykotoxine bilden kann, sind die Erkrankungsformen nicht immer identisch und die klinischen Erscheinungen mannigfaltig (MIROCHA et al., 1976). Während akute Vergiftungen hierzulande relativ selten vorkommen, besteht durch die Einmischung Fusarien befallener Rohstoffkomponenten ins Fertigfutter hauptsächlich die Gesundheitsgefährdung unserer Tierbestände durch chronische Intoxikation, die sich oftmals nur in erhöhter allgemeiner Krankheitsbereitschaft oder Leistungsdepressionen zu erkennen gibt. Eine einwandfreie Kausalbeziehung zwischen Mykotoxingehalt im Futter und

Erkrankung ließ sich bislang nur in den wenigsten Fällen herstellen. Das Ausbleiben charakteristischer, auf die Krankheitsursache hinweisender Symptome, unzulängliche Untersuchungsmethoden für den Direktnachweis der Toxine in Futtermitteln und die teilweise Unkenntnis über die Verbreitung toxinogener Stämme in den verschiedenen Klimaregionen der Erdoberfläche scheinen dafür die Gründe zu liefern. Insbesondere letzterer Sachverhalt gab die Veranlassung dazu, daß mir die Aufgabe zu teil wurde, eine repräsentative Zahl von Stämmen der Gattung *Fusarium*, die aus Futtermitteln hierzulande isoliert worden waren, auf ihr Toxinbildungsvermögen zu untersuchen. Dabei sollten außer physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden für den Toxinnachweis auch biologische Testverfahren herangezogen werden, um einmal sicher zu stellen, daß bei der DC-Analyse sich gegebenenfalls einem Nachweis entziehende Toxine zumindest auf diese Weise erfaßt werden. Zum anderen sollte auch die Leistungsfähigkeit der beiden Nachweismöglichkeiten überprüft werden, da die Mehrzahl der Fusarientoxine zwar in der Giftigkeit der Toxizität der Aflatoxine entsprechen, sich aber wegen lichtoptischer Inaktivität nicht wie diese und andere bekannte Mykotoxine fluorometrisch darstellen lassen.

## 2. SCHRIFTTUM

### 2.1. Systematische Stellung und Einteilung der Gattung *Fusarium* LINK

Der Begriff *Fusarium*, zum ersten Mal 1809 von LINK erwähnt, umfaßt eine Pilzgattung, deren imperfekte Formen mit sichel- oder spindelförmigen (fusiforme), septierten und unseptierten Sporen (Makro- und Mikrokonidien) gekennzeichnet sind (BOOTH, 1971). Fusarien werden zu den Schimmelpilzen gezählt, denen in der Regel ein Vegetationskörper (Thallus) eigen ist. Er besteht aus feinen, fadenartigen Röhren (Hyphen), die durch Vernetzung ein Geflecht (Mycel) bilden (MÜLLER, 1974). Dem unbewaffneten Auge sind Fusarienkulturen häufig erkennbar durch eine kräftige, in vielen Fällen charakteristische Pigmentierung, die je nach Alter und Substratangebot als weiß, orange, braun, karminrot, violett oder dunkelbraun erscheint. Das Luftmycel wächst bei vielen Stämmen sehr dicht und mit wolliger, flockiger oder filziger Beschaffenheit. Bei einigen Fusarienstämmen ist Luftmycel nur geringgradig ausgebildet; die Kulturen zeigen dann eine schleimige Konsistenz (WOLLENWEBER, 1932; BOOTH, 1971). Fusarien sind ubiquitäre Erdbewohner, die sowohl zur saprophytischen, als auch parasitischen Lebensweise befähigt sind. Sie befallen Pflanzen verschiedener Reifestadien, die auf dem Felde stehen und führen zu Welke und Fäule (Fusariosen). Viele Arten besitzen die Fähigkeit, in der Pflanze sekundäre Metaboliten zu bilden, die nach Aufnahme durch Mensch und Tier bei diesen Toxikosen, sog. Fusariotoxikosen verursachen können (PALTI, 1978).

In der Pilzsystematik werden die Fusarien der Familie Tuberculariaceae innerhalb der Unterabteilung Deuteromycotina (Fungi imperfecti) zugeteilt (GEDEK, 1980). Die Spezieseinteilung wurde sehr unterschiedlich gehandhabt. Da Fusarien durch ihre weite geographische Verbreitung unterschiedlichen Umweltbedingungen und Nährstoffangeboten ausgesetzt sind, resultieren daraus morphologische Veränderungen in den Kulturen, die eine Vielfalt von Artbezeichnungen für größtenteils identische Spezies (Synonyme) haben entstehen lassen (JOFFE, 1974 a).

1935 veröffentlichte WOLLENWEBER ein System zur Fusarintaxonomie, in dem er die Pilze an Hand von Größe, Form und Septenzahl der Konidien und nach Farbe, Wachstum und Mycelart der Kulturen charakterisierte und in 16 Gruppen (Sektionen) mit 143 Spezies, Varietäten und Formen einteilte.

SNYDER und HANSEN versuchten 1940 dieses System zu vereinfachen und reduzierten die Einteilung auf neun Sektionen, wobei die Pflanzenpathogenität als Hauptkriterium im Vordergrund stand.

Die heute am häufigsten verwendete Fusariennomenklatur, ausgehend von der Systematik nach WOLLENWEBER und REINKING (1935), umfaßt 12 Sektionen und 51 Spezies und Varietäten; sie richtet sich in ihrer Einteilung vor allem nach der immer mehr bedeutend werdender Toxikologie, berücksichtigt aber auch pflanzenpathogene Gesichtspunkte (SEEMÜLLER, 1968; GERLACH, 1970; JOFFE, 1974 a; PALTI, 1978). In Tabelle 1 sind die Sektionen mit den vom mykotoxikologischen Standpunkt wichtigsten Arten dargestellt.

Tabelle 1: Fusarieneinteilung und Merkmale unter Angabe der als Toxinbildner bekannten Arten und deren Synonyme in Klammern, nach BOOTH, 1971, JOFFE, 1974 a und PALTÍ, 1978.

Sektion Arachnites:

Kulturen mit weißer, blaß-rosafarbener, oder gelber bis bräunlicher Pigmentation; Luftmycel vereinzelt in Büscheln, wollig, zum Teil filzig. Mikrokonidien: leicht gebogen, sichelförmig. Makrokonidien: halbmondförmig; Basiszelle keilförmig; Apexzelle schmal, spitz zulaufend. Größe:  $\varnothing$  22  $\mu$  x 4,2  $\mu$ , Septenzahl: 0 - 5.

Spezies: F. nivale  
F. tabacinum  
F. larvarum

Sektion Martiella:

Kulturen mit weißer, crem- und orangefarbener bis bräunlicher Pigmentation; Luftmycel wollig, spärliches Wachstum, Oberfläche der Kultur faltig. Mikrokonidien: sehr zahlreich; länglich, oval. Makrokonidien: länglich, leicht gebogen oder lanzenförmig; Apexzelle häufig schnabelförmig, Basiszelle abgerundet; dicke Zellwand. Größe:  $\varnothing$  26  $\mu$  x 3,7  $\mu$ , Septenzahl 0 - 5.

Spezies: F. solani  
F. javanicum  
F. coeruleum

Sektion Eupionnotes:

Kulturen mit blaß-gelblicher, rötlicher bis gelb-brauner Pigmentation; Luftmycel äußerst gering, Kulturoberfläche schleimig.

Mikrokonidien: länglich, elliptisch; werden nur vereinzelt gebildet.

Makrokonidien: schmal, länglich, leicht gekrümmt; Basiszelle keilförmig, Apexzelle oftmals rund.

Größe:  $\emptyset$  23  $\mu$  x 3,1  $\mu$ ,

Septenzahl: 0 - 3, F. aquaeductum nur ein mittelständiges Septum.

Spezies: F. aquaeductum (F. episphaeria)

F. merismoides (F. episphaeria)

F. dimerum (F. episphaeria)

Sektion Sporotrichiella:

Kulturen mit weißer, gelblicher und rosafarbener bis roter Pigmentation oder mit dunkelroter bis violetter Farbe; Luftmycel haarartig, filzig.

Mikrokonidien: (F. poae) zitronen- oder pfirsichförmig, Papille an der Basis; sehr zahlreich. (F. tricinctum, F. chlamydosporum, F. sporotrichioides): rundlich bis elliptisch, Apexpol zugespitzt.

Makrokonidien: mittlere Breite, leicht gebogen, Apexzelle mit sich stark verjüngender Spitze.

(Bei F. poae nur vereinzelt Makrokonidien).

Größe:  $\emptyset$  21  $\mu$  x 5,1  $\mu$ ,

Septenzahl: 0 - 5.

Spezies: *F. poae* (*F. sporotrichiella*)  
*F. sporotrichioides* (*F. sporotrichiella*)  
*F. tricinctum*  
*F. chlamydosporum* (*F. fusarioides*)

Sektion Spicarioides:

Kulturen rötlich oder violett, mit flockigem Luftmycel.

Mikrokonidien: länglich oval, bilden an den Konidienträgern Ketten.

Makrokonidien: groß, zylindrisch, Apexzelle schnabelförmig, Basiszelle fußartig; dicke Zellwand.

Größe:  $\varnothing$  57  $\mu$  x 5,5  $\mu$ ,  
bis zu 11 Septen.

Spezies: *F. decemcellulare* (*F. rigidiuscula*)

Sektion Roseum:

Kulturen mit gelben bis ockerfarbenen oder karminroten bis violetten Pigmentierungen und dichtem wolligen Luftmycel.

Mikrokonidien: birnenförmig; werden selten gebildet.

Makrokonidien: schmale, fadenförmige Konidien, Mittelteil leicht gebogen, Apex- und Basiszellen deutliche Schnabelform; dünne Zellwand.

Größe:  $\varnothing$  35  $\mu$  x 3,1  $\mu$ ,  
Septenzahl: 0 - 7.

Spezies: *F. avenaceum*  
*F. arthrosporioides*  
*F. graminum*  
*F. detonianum*

Sektion Elegans:

Kulturen mit weißer, hellrosa-farbener und violetter Pigmentierung mit wolligem und filzigem Luftmycel.

Mikrokonidien: länglich schmal, spindelförmig; Apex- und Basiszellen tütenförmig.

Größe:  $\emptyset$  22  $\mu$  x 3,3  $\mu$ ,

Septenzahl differiert zwischen 0 und 5, wobei Konidien mit 3 Septen sehr oft vorkommen.

Spezies: *F. oxysporum*  
*F. redolens*  
*F. angustum*  
*F. conglutinans*  
*F. udum*

Sektion Gibbosum:

Kulturen mit weißer, blaßgelber und karminroter Pigmentation; dichtes wolliges Luftmycel. Mikrokonidien: länglich oval; werden selten gebildet.

Makrokonidien: schlanke, leicht gekrümmte Konidien; Apexzellen verlängert, laufen tütenförmig aus; deutlich fußartig ausgeprägte Basiszellen.

Größe:  $\emptyset$  40  $\mu$  x 4,1  $\mu$ ,

Septenzahl: 0 - 7, bei *F. equiseti* 5 Septen, *F. longipes* mit bis zu 12 Septen.

Spezies: *F. equiseti*  
*F. acuminatum* (*F. scirpi*)  
*F. compactum* (*F. scirpi*)  
*F. longipes* (*F. scirpi*)

Sektion Lateritium:

Kulturen mit weißer, gelber, orangefarbener oder violetter bis dunkelblauer Pigmentation. Luftmycel flockig, in unterschiedlicher Menge. Mikrokonidien: oval, ellipsenförmig; geringes Vorkommen.

Makrokonidien: länglich, Mittelteil zylindrisch, gerade; Apexzellen mit ausgeprägtem Schnabel, Basis gebogen und rund. Dünne Zellwand.

Größe:  $\emptyset$  53  $\mu$  x 3,4  $\mu$ ,

Septenzahl: 0 - 7.

Spezies: *F. lateritium*

*F. xylarioides*

*F. sarcochroum*

Sektion Liseola:

Kulturen mit weißer und violetter bis dunkelblauer Pigmentation und dichtem wolligen Luftmycel.

Mikrokonidien: schmal, oft in Ketten (*F. moniliiforme* var. *subglutinans*).

Makrokonidien: spindelförmig mit leicht gebogenen Apex- und Basiszellen mit dünner Zellwand.

Größe:  $\emptyset$  37  $\mu$  x 2,7  $\mu$ ,

Septenzahl: 0 - 7, meistens 3 Septen.

Spezies: *F. moniliiforme* (*F. proliferatum*)

(*F. verticillioides*)

(*F. fujikuroi*)

*F. moniliiforme* var. *subglutinans*

(*F. sacchari* var. *subglutinans*)

*F. moniliiforme* var. *anthophilum*

(*F. anthophilum*)

Sektion Fusarium (Discolor):

Kulturen mit weißer, gelber roter bis brauner Pigmentation und mit dichtem wolligen Luftmycel.

Mikrokonidien: oval, beide Pole abgerundet, geringes Vorkommen.

Makrokonidien: große, dickwandige Konidien, Spindelform; kurze, spitze Apikalzellen.

Größe:  $\emptyset$  46  $\mu$  x 5,2  $\mu$ ,

Septenzahl: 0 - 7, Konidien mit 3 - 5 Septen kommen häufig vor.

Spezies: F. graminearum (F. roseum "graminearum")

F. culmorum (F. roseum "culmorum")

F. sambucinum

F. heterosporum

F. trichothecioides

F. tumidum

F. macroceras

Sektion Arthrosporiella:

Kulturen mit weißer, gelber bis ockerfarbener und karminroter Pigmentierung; wolliges Luftmycel.

Mikrokonidien: elliptisch bis birnenförmig.

Makrokonidien: spindel- bis sichelförmig; keilförmige Basalzelle; schmale, spitze Apexzelle.

Größe:  $\emptyset$  31  $\mu$  x 4,1  $\mu$ ,

Septenzahl zwischen 0 und 7, Konidien mit 3 bis 5 Septen kommen häufig vor.

Spezies: F. semitectum

## 2.2. Vorkommen von Fusarien und Bedingungen der Kontamination von Futtermitteln

Fusarien infizieren sehr häufig Cerealien, die noch auf dem Halm stehen bzw. frisch geerntet sind (CHRISTENSEN, 1962; SPICHER, 1958). Das Ausmaß eines Pflanzenbefalles durch diese Schimmelpilzgattung wird vornehmlich durch ökologische Faktoren bestimmt. So zeigen die meisten Fusarienarten optimales Wachstum bei Außentemperaturen zwischen  $+ 20^{\circ} \text{C}$  und  $+ 25^{\circ} \text{C}$ , mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 88 % bis 91 % und einem Feuchtigkeitsgehalt in der Pflanze (Substratfeuchte) von 22 % bis 25 % (LILLEHOJ, 1973; MALALASEKERA et al., 1973). So wird in Ländern, wie z.B. Amerika oder Japan, die intensiven Anbau von Monokulturen mit Mais bzw. Reis, Weizen und Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) betreiben, nach Regenperioden ein erheblicher Anstieg von Fusariosen verzeichnet; zugleich verbleiben die Pflanzen infolge des schlechten Wetters länger als üblich auf dem Felde (MIROCHA et al., 1974 a; UENO, 1970). Dagegen kommt es beim Absinken der Substratfeuchte auf 14 % und bei kalten Außentemperaturen zu einem deutlichen Sistieren des Fusarienwachstums (SHERWOOD et al., 1974 a; JOFFE, 1974 b). Trotz bestimmender Umweltfaktoren haben sich anscheinend viele Fusarienarten den regional unterschiedlichen Klimaverhältnissen und den entsprechenden Pflanzenkulturen angepaßt (Vergl. Tabelle 2).

Tabelle 2: Vorkommen dominanter Fusarienarten in Futtermitteln  
unterschiedlicher Provenienz

| Herkunftsland  | Cerealienart | Fusarienart        | Autor                      |
|----------------|--------------|--------------------|----------------------------|
| USA            | Mais         | F.moniliforme      | KOMMEDAHL et al.,<br>1977  |
|                |              | F.roseum           | NICHOLSON et al.,<br>1976  |
|                |              | F.oxysporum        | HOOKER et al.,<br>1976     |
|                |              | F.solani           |                            |
|                |              | F.tricinctum       |                            |
| Großbritannien | Weizen       | F.graminearum      | HESSELTINE et al.,<br>1978 |
|                |              |                    |                            |
|                | Weizen       | F.avenaceum        | FLANNIGAN, 1970            |
|                |              | F.nivale           |                            |
|                |              | F.poa              |                            |
|                |              | F.culmorum         |                            |
|                | Gerste       | F.culmorum         | MULINGE et al.,<br>1970    |
|                |              | F.avenaceum        |                            |
|                |              | F.graminearum      |                            |
|                | Hafer        | F.solani           | FLANNIGAN, 1970            |
|                |              | F.avenaceum        |                            |
|                |              | F.nivale           |                            |
|                |              | F.poa              |                            |
| BRD            | Mais         | F.culmorum         | MARASAS et al.,<br>1979    |
|                |              |                    |                            |
|                | Gerste       | F.poa              | MARASAS et al.,<br>1979    |
|                |              | F.avenaceum        |                            |
|                |              | F.tricinctum       |                            |
|                |              |                    |                            |
| Finnland       | Weizen       | F.culmorum         | UOTI et al.,<br>1974       |
|                |              | F.avenaceum        |                            |
|                |              | F.poa              |                            |
|                |              | F.oxysporum        |                            |
|                |              | F.arthrosporioides |                            |
|                | Gerste       | F.avenaceum        | UOTI et al.,<br>1974       |
|                |              | F.tricinctum       |                            |
|                |              | F.culmorum         |                            |
|                |              | F.poa              |                            |
|                |              | F.arthrosporioides |                            |

Fortsetzung Tabelle 2.

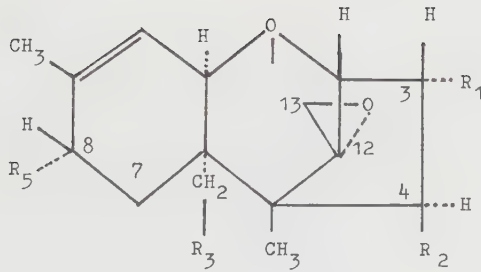
| Herkunftsland | Cerealienart      | Fusarienart                                               | Autor                   |
|---------------|-------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------|
| Finnland      | Hafer             | F.avenaceum<br>F.poa<br>F.culmorum<br>F.tricinctum        | UOTI et al.,<br>1974    |
| Japan         | Reis              | F.saubineti<br>F.nivale                                   | UENO et al.,<br>1971    |
|               | Weizen            | F.saubineti<br>F.graminearum                              | UENO et al.,<br>1971    |
|               | Bohnen-<br>hülsen | F.solani<br>F.roseum                                      | UENO et al.,<br>1972 b  |
| Südafrika     | Mais              | F.moniliiforme                                            | MARASAS et al.,<br>1978 |
|               | Hirse             | F.moniliiforme                                            | MARTIN et al.,<br>1978  |
| Äthiopien     | Hirse             | F.solani<br>F.semitectum<br>F.oxysporum<br>F.moniliiforme | NILES, 1976             |

### 2.3. Bildung bekannter Toxine durch Fusarien

Die Mehrzahl der von ihrer chemischen Struktur her bekannten Toxine der Fusarien stellen Sesquiterpenoide dar, gehören aber im Gegensatz zu anderen toxischen sekundären Metaboliten von Schimmelpilzen den einfachen Trichothecenen an. Die weiteren toxischen Stoffwechselprodukte sind Resorzyclate. Ferner wurde ein Butenolid, beschrieben als 4-Acetamido-4-hydroxyl-2-butenyl-Säurelacton, nachgewiesen. Ein wasserlösliches Kalium- oder Natriumsalz liegt in dem Moniliformin vor. Während erstere Verbindungen bereits unter natürlichen Bedingungen nachgewiesen worden sind, steht der Nachweis für das Moniliformin diesbezüglich noch aus.

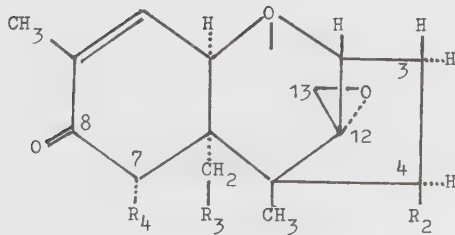
Die Trichothecene besitzen als Grundgerüst einen Trichothecan-Ring, mit einer Olefin-Bindung zwischen C-9 und C-10 Atom und einer Epoxy-Bindung zwischen C-12 und C-13 Atom (siehe Abbildung 1). Aus diesem Grund werden sie auch als 12, 13-Epoxytrichothecene bezeichnet (MIROCHA et al., 1977). UENO (1977 a) teilte die Trichothecene in vier Typen ein, wobei Typ A Hydroxyl- oder Acyloxyl-Gruppen an bestimmten C-Atomen substituiert hat; Typ B besitzt eine Carbonyl-Gruppe am C-8 Atom, während Typ C die makrocyclischen Trichothecene erfaßt. Typ D enthält an der C-7, C-8 Position eine zweite Epoxy-Gruppe (TAMM, 1977).

Von den toxinbildenden Fusarienspezies werden insgesamt 17 verschiedene Trichothecen-Verbindungen (nur Typ A und B) produziert, wobei ein Stamm mehrere Toxine bilden kann (vergl. Tabelle 3). Als weitere Trichothecenbildner erwiesen sich die Pilzgattungen *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Dendrodochium*, *Stachybotrys* (UENO, 1977 a).



Typ A

|                    | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>5</sub>                                       |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|------------------------------------------------------|
| Diacetoxyscirpenol | OH             | OAc            | OAc            | H                                                    |
| T2-Toxin           | OH             | OAc            | OAc            | OCOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| Neosolaniol        | OH             | OAc            | OAc            | OH                                                   |
| HT2-Toxin          | OH             | OH             | OAc            | OCOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |



Typ B

|             | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Nivalenol   | OH             | OH             | OH             | OH             |
| Fusarenol X | OH             | OAc            | OH             | OH             |

Abbildung 1: Strukturformeln von Trichotheceninen der Fusarien

Tabelle 3: Trichothecen-Bildungsspektrum bekannter  
Fusarienarten

| Spezies                    | Toxine                                                     | Autor                  |
|----------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------|
| <i>F. sporotrichioides</i> | Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol | SZÁTHMÁRY et al., 1976 |
| <i>F. poae</i>             | Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. tricinctum</i>       | Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. nivale</i>           | Fusarenon X,<br>Nivalenol                                  | MOROOKA et al., 1970   |
| <i>F. incarnatum</i>       | T2-Toxin                                                   | RUKMİNİ et al., 1978   |
| <i>F. avenaceum</i>        | Neosolaniol,<br>T2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol            | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. decemcellulare</i>   | Neosolaniol,<br>T2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol            | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. epispheeria</i>      | Fusarenon X,<br>Nivalenol                                  | SAITO et al., 1974     |
| <i>F. lateritium</i>       | Diacetoxyscirpenol                                         | COLE et al., 1972      |
| <i>F. graminearum</i>      | Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. culmorum</i>         | Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. oxysporum</i>        | Fusarenon X,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin                        | SAITO et al., 1974     |
| <i>F. equiseti</i>         | Neosolaniol,<br>T2-Toxin,<br>Diacetoxyscirpenol            | UENO et al., 1973 b    |
| <i>F. solani</i>           | Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin<br>Diacetoxyscirpenol  | UENO et al., 1972 a    |

Zu den als weitere Metaboliten der Fusarien nachgewiesenen Resorzyclate (Abbildung 2) gehört, neben 15 Derivaten, als wichtigste, da aktivste Verbindung das Zearalenon (F2, RAL). Die Resorzyclate besitzen ein 6-(10-hydroxy-6-oxo-trans-1-undecenyl)  $\beta$ -Resorcyl-Säurelacton (MIROCHA et al., 1974 a).

MÜLLER (1978) gibt als Hauptproduzenten *Gibberella zeae*, die perfekte Form von *F. graminearum* an, mit einem Anteil der positiven Stämme von 85 %; *F. culmorum* folgt mit 63 %, *F. roseum* mit 60 % und *F. graminearum* mit 52 %. Spezies wie *F. moniliforme*, *F. avenaceum*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides* und *F. nivale* liegen mit Zearalenon-positiven Stämmen unter 10 % (CALDWELL et al., 1970; MÜLLER, 1978).

Das Butenolid mit dem 4-Acetamido-4-hydroxyl-2-butenyl-Säurelacton als Grundgerüst (Abbildung 3), ist in Extrakten von Stämmen der Art *F. tricinctum*, *F. nivale*, *F. poae* und *F. sporotrichioides* nachgewiesen worden (UENO et al., 1972 a; UENO et al., 1970; GROVE et al., 1970). Bei Untersuchungen zur Butenolid-Bildungsfähigkeit von Fusarienarten, fanden YATES et al. (1970), unter 32 Stämmen 8 Stämme, die nur Butenolid erzeugten, in 12 Stämmen konnten sie dagegen neben Butenolid, auch Trichothecene (hauptsächlich T 2-Toxin) nachweisen.

Das Moniliformin, 1973 von COLE et al. aus *F. moniliforme* isoliert, kommt, wie Abbildung 4 zeigt, entweder als Natrium- oder Kaliumsalz einer 1-hydroxy-cyclobut-1-ene-3,4-dione-Verbindung vor (THIEL, 1978). Neben *F. moniliforme* var. *subglutinans* (KRIEK et al., 1977) wurde kürzlich auch *F. fusarioides*, *F. avenaceum* und *F. oxysporum* als Moniliformin-Bildner erkannt (RABIE et al., 1978; MARASAS et al., 1979).

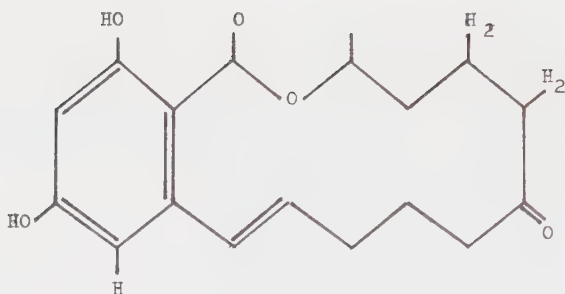


Abbildung 2: Zearalenon

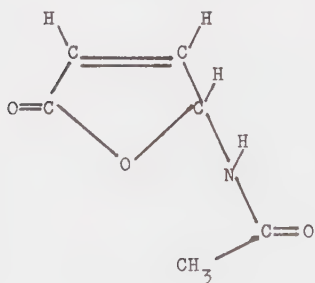


Abbildung 3: Butenolid

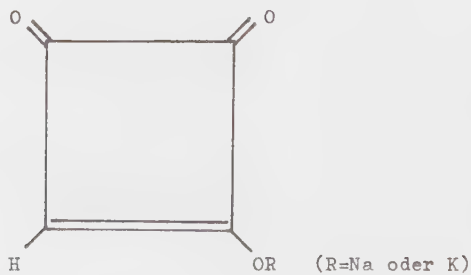
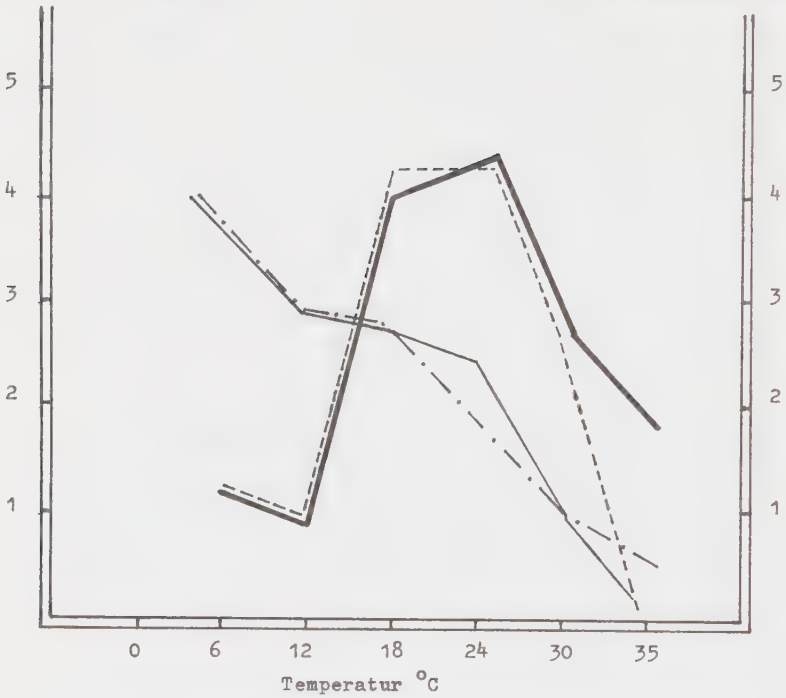


Abbildung 4: Moniliformin

Während das Wachstum offensichtlich durch höhere Temperaturen angeregt wird, scheinen niedrige Temperaturen die Toxinproduktion zu stimulieren. So wies JOFFE (1974 b) bei Temperaturen von  $+ 18^{\circ}\text{C}$  bis  $+ 24^{\circ}\text{C}$  zwar ein vermehrtes Wachstum von *F. poae*- und *F. sporotrichioides*-Stämmen nach, die Toxizität, auf Kaninchenhaut getestet, war jedoch nur gering. Dagegen zeigte sich die höchste Toxinabgabe der Stämme bei  $+ 6^{\circ}\text{C}$  bis  $+ 12^{\circ}\text{C}$ , mit stark reduziertem Kulturwachstum (vergl. Abbildung 5). Eine vermehrte Bildung von T 2-Toxin konnte durch Kälteschock bei einem *F. tricinctum* Stamm hervorgerufen werden (SIEGFRIED, 1977). Ebenfalls durch Kältebehandlung wurde bei *F. roseum*-Stämmen eine deutliche Aktivierung der Zearalenonproduktion erwirkt (ISHII et al., 1974; GROSS et al., 1975). Zusammenhänge zwischen Stärke der Zearalenonbildung bei *F. graminearum*-Stämmen, Substratfeuchte und Außentemperatur deckten SHERWOOD et al. (1974 b) auf; sie fanden die größten Zearalenonabgaben in Mais, Weizen und Hafer, mit einer Kornfeuchte von über 30 % und bei Temperaturen von  $+ 18^{\circ}\text{C}$  bis  $+ 12^{\circ}\text{C}$ . Über den Zeitraum und das Ausmaß der Befähigung zur Toxinbildung von Fusarienstämmen, wird in der Literatur Unterschiedliches berichtet. BU'LOCK (1970) stellte zur Produktion von sekundären Metaboliten allgemein fest: "Der größte Nachteil bei den Pilzen ist die Tendenz, ihre Stoffwechselfähigkeit zu verlieren, oder zu ändern". Nach MARASAS et al. (1969) bildeten von 13 *F. tricinctum*-Stämme die 1965 in großen Mengen T 2-Toxin produziert hatten, 1968 nur noch drei Stämme dieses Toxin. SMALLEY et al. (1974) beschrieben dagegen eine über 30 Jahre anhaltende Diacetoxyscirpenol-Produktion bei einem *F. scirpi*- und einem *F. equiseti*-Stamm.

mit. Toxizitätsgrad

mit. Wachstumsindex



F. poae (Wachstum) —————  
F. sporotrichioides (Wachstum) - - - - -  
F. poae (Toxinbildung) — · — · —  
F. sporotrichioides (Toxinbildung) - - - - -

Abbildung 5: Beziehung zwischen Kulturwachstum und Toxinbildung von *F. poae* und *F. sporotrichioides* bei verschiedenen Temperaturen nach JOFFE (1974 b).

Die Gründe für dieses unterschiedliche Verhalten werden größten Teils in variablen und nicht standardisierten Nahrungsquellen und wechselnden Umweltbedingungen gesehen (SMALLEY et al., 1974; LEONOV, 1977; BAMBURG et al., 1971).

Der Nachweis von Fusarientoxinen hat sich nicht nur auf Laboruntersuchungen beschränkt; es konnten in den letzten Jahren sekundäre Metaboliten von verschiedenen Fusarienarten auch in natürlichen Substraten vorkommend, nachgewiesen werden. Aus Tabelle 4 geht nicht nur hervor, in welchen Substraten Toxine vorgekommen sind, sondern es ist daraus zugleich zu ersehen, daß Zearalenon offensichtlich weitaus häufiger nachzuweisen ist, als die Toxine aus der Gruppe der Trichothecene.

## 2.4. Wirkungen von Fusarientoxinen in vivo

### 2.4.1. Allgemeine Angaben zur Angriffsweise der bekannten Toxine

Die Gesundheitsgefährdung von Mensch und Tier durch Fusarientoxine ist zwar bekannt, jedoch sind eindeutige Zusammenhänge ätiologischer und klinischer Art zwischen Krankheitsbild und Toxininkorporation, aufgrund vielfältiger Symptomatologie nicht immer erkennbar (PALYUSIK, 1977).

Durch cytologische Untersuchungen konnten Beziehungen zwischen Fusarientoxinen und Zellstoffwechsel hergestellt werden. So inhibieren Trichothecen-Toxine durch kurzzeitige kompetitive Bindung an ribosomale S-60-Untereinheiten die Polypeptidtransferase und verhindern letztlich die Bildung von Proteinen

(MCLAUGHLIN et al., 1977; UENO et al., 1973 a; UENO, 1977 b).

Tab. 4: Feststellung von Fusarientoxinen in Cerealien und Mischfutter unterschiedlicher Provenienz

| Toxin              | Konzentration | Substrat         | Herkunft       | Literatur               |
|--------------------|---------------|------------------|----------------|-------------------------|
| Liacetoxyscirpenol | 0.38 - 0.5    | Mischfutter      | USA            | MIROCHA et al., 1976;   |
|                    | 31.5          | Mais             | BRD            | SIEGFRIED, 1977;        |
|                    | 2.0           | Mais             | USA            | HSU et al., 1972;       |
|                    | 0.076         | Mischfutter      | USA            | MIROCHA et al., 1976;   |
|                    | 0.2           | Maisstengel      | USA            | MIROCHA et al., 1979 a; |
| T2-Toxin           | 0.02          | Mais             | Frankreich     | JEMMALI et al., 1978;   |
|                    | +             | Getreide         | Großbritannien | PETRIE et al., 1977;    |
|                    | +             | Hirse            | Indien         | RUKMINI et al., 1978;   |
|                    | +             | Mais             | Kanada         | FUNNEL, 1979            |
|                    | +             | Gerste           | Japan          | MOROOKA et al., 1970    |
| Nivalenol          | 1.18 - 4.22   | Mais             | Frankreich     | JEMMALI et al., 1978;   |
|                    | 0.04 - 0.06   | Mais/Maisstengel | USA            | MIROCHA et al., 1976    |
|                    | 1.0           | Mischfutter      | USA            | VESONDER et al., 1978   |
|                    | 0.14 - 0.6    | Mais             | Frankreich     | MIROCHA et al., 1979 a  |
|                    | 1.0 - 20.0    | Mais             | Österreich     | MIROCHA et al., 1976    |
| Deoxynivalenol     | 5.0           | Hafer            | Finnland       | JEMMALI et al., 1978    |
|                    | 2.0           | Getreide         | Schweden       | LEW et al., 1979        |
|                    |               |                  |                | MIROCHA et al., 1979 b  |
|                    |               |                  |                | PETTERSSON et al., 1979 |
|                    |               |                  |                |                         |

| Toxin      | Konzentration | Substrat                      | Herkunft       | Literatur                                                                                                                        |
|------------|---------------|-------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Zearalenon | 0.066 - 92.0  | Mais                          | USA            | EPPLEY et al., 1974; MIROCHA et al., 1976; MIROCHA et al., 1979 a; SHOTWELL et al., 1977; 1971; 1975; 1976; STOLOFF et al., 1976 |
|            | 2.5 - 10.0    | Mais                          | Frankreich     | JEMMALI, 1973; JEMMALI et al., 1978                                                                                              |
|            | Spuren - 42.0 | Mais                          | Italien        | BOTTALICO, 1979;                                                                                                                 |
|            | 0.05 - 1.6    | Mais                          | Österreich     | LEW et al., 1979;                                                                                                                |
|            | 0.043 - 5.1   | Mais                          | Jugoslawien    | BALZER et al., 1977;                                                                                                             |
|            | +             | Mais/Hirse/Malz               | Süd-Afrika     | MARTIN et al., 1978;                                                                                                             |
|            | 6.4 - 12.8    | Mais                          | Süd-Afrika     | MARASAS et al., 1977;                                                                                                            |
|            | 0.01 - 141.0  | Mais/Mischfutter/<br>Getreide | Kanada         | FUNNELL, 1979;                                                                                                                   |
|            | 0.1 - 0.8     | Mais                          | Sambia         | LOVELACE et al., 1977;                                                                                                           |
|            | 0.36 - 11.0   | Weizen                        | USA            | SHOTWELL et al., 1977;                                                                                                           |
|            | +             | Hafer                         | Großbritannien | RICHARDSON, 1970;                                                                                                                |
|            | 25.0 - 135.0  | Hafer                         | Finnland       | MIROCHA et al., 1979 b;                                                                                                          |
|            | 0.5 - 0.75    | Gerste                        | Großbritannien | MILLER et al., 1973;                                                                                                             |

In der Folge kommt es nicht nur zur allgemeinen Gewichtsabnahme, sondern auch zu einer Beeinflussung des immunologischen Systems. Hemmung der Antikörperproduktion, Hemmung der Stimulierbarkeit von B- und T-Lymphozyten, Leukopenie, Reduktion von Gewicht und Größe bei Thymus, Milz, Lymphknoten und Knochenmark sind Erscheinungen, die durch zum Teil chronische Aufnahme dieser Mykotoxine ausgelöst werden (WISKOTT, 1978; STÄHELIN et al., 1968; LAFARGE-FRAYSSINET et al., 1979; ROSENSTEIN et al., 1979; LUTSKY et al., 1978; UENO et al., 1973 a; WYATT et al., 1975).

Die biologische Aktivität des Zearalenons zeigt sich an Uterus und Ovar in einer anderen Weise. Durch kompetitive Blockierung der Östrogenrezeptoren und durch Überführen des Zearalenon-Rezeptor-Komplexes in den Zellkern kommt es zu einem Anstieg von RNS (geringfügig auch von DNS) und Protein in den entsprechenden Zellen (BOYD et al., 1978; GREENMANN et al., 1979; UENO et al., 1975). Die Wirksamkeit von Zearalenon an diesen Rezeptoren ist dabei um einiges geringer, als die von natürlichen Östrogenen (HIDY et al., 1977). Des weiteren werden durch Zearalenon auch Hypothalamus und Hypophyse beeinflusst, was zu hormonellen Störungen führt (HOBSON et al., 1977). Dadurch werden beim Schwein neben Dauerbrunst, Scheinschwangerschaft und Unfruchtbarkeit, auch Veränderungen der Nachkommenschaft wie Mißbildung, geringere Wurfstärke und reduziertes Geburtsgewicht verursacht; sogar eine Resorption der Föten wird vermutet (CHANG et al., 1979). Der Eingriff des erwähnten Butenolids in Abläufe des Zellstoffwechsels in der Weise der Trichothecene wird vermutet. Bei entsprechender Aufnahme dieses Mykotoxins entwickeln sich ähnliche Symptome, vor allem Nekrosen und Hämorrhagien, wie bei einer T 2-Toxin-Vergiftung (TOOKEY et al., 1972; KOSURI et al., 1970; GROVE et al., 1970).

Eine cytotoxische Wirkung von Moniliformin wird in spezifischen Eingriffen im intermediären Zellstoffwechsel vermutet (THIEL, 1978). So soll dieses Mykotoxin schon bei einer extrem niedrigen Konzentration eine 50 % Hemmung, sowohl die Umwandlung von Brenztraubensäure (Pyruvat) in aktivierte Essigsäure (Acetyl-CoA) verhindern, als auch die Decarboxylierung von -Ketoglutarat zu Succinyl-CoA unterbinden (THIEL, 1978).

#### 2.4.2. Spezielle Erkrankungen bei Nutztieren und beim Menschen

##### 2.4.2.1. Fusariotoxikosen des Schweines

###### 2.4.2.1.1. Hyperöstrogenismus

Seit ungefähr 50 Jahren wird eine Krankheit bei Sauen beobachtet, die sich hauptsächlich auf Fortpflanzungsorgane auswirkt (MCNUTT et al., 1928). Charakteristische Symptome sind Schwellung von Vulva und Gesäugeleiste, in schweren Fällen treten Prolaps von Rektum und Vagina auf (MIROCHA et al., 1967). Pathologisch-anatomisch werden Epithelzellvermehrung und squamöse Metaplasien an Vagina, Cervix, Uterus, Ovar und den Milchdrüsen festgestellt. Die Folge sind Fruchtbarkeitsstörungen und Pseudogravidität (MIROCHA et al., 1974 a; KURTZ et al., 1969; CHANG et al., 1979).

Bei der Nachkommenschaft äußert sich die Erkrankung in verringerter Wurfgröße und reduziertem Geburtsgewicht der Ferkel. Die Sterblichkeitsrate ist in den ersten 10 Tagen erhöht. Gelegentlich können bei weiblichen Ferkeln Vulvaschwellungen und bei männlichen

Tieren Präputialödeme und Hodenatrophien auftreten (PALYUSIK,1977; SHARMA et al.,1974). Auslösung östrogen-  
gener Effekte bei juvenilen Schweinen innerhalb kurzer  
Zeit erreichten MIROCHA et al. (1974 a) mit 1 bis 5 mg  
Zearalenon pro Tier und Tag. Reproduktionsstörungen  
unterschiedlicher Stärke konnten CHANG et al. (1979)  
mit Toxinkonzentrationen von 25 ppm, 50 ppm und 100 ppm  
pro Tier auslösen. Die Reduktion der Wurfgröße konnte  
nach einer 15tägigen Verfütterung von reinem Zearalenon  
(150 mg/Tier) bewirkt werden (MIROCHA et al.,1974 a).

#### 2.4.2.1.2. Futterverweigerung und Erbrechen (feed refusal and emesis)

Futterverweigerung und Erbrechen sind Symptome, die  
oftmals zusammen mit dem Hyperöstrogenismus auftreten.  
Die Tiere erbrechen 10 bis 45 Minuten nach Aufnahme  
von Nahrung, teilweise verzichten sie auch auf Futter-  
angebot, oder fressen nur mit Widerwillen. Die  
Erkrankung endet in der Regel nicht tödlich (CURTIN  
et al.,1966; PALYUSIK,1977).

Ursache war Getreide, das mit *F.roseum* und *F. graminea-*  
*rum* Stämmen infiziert war. Diese Stämme produzierten  
neben Zearalenon, auch Trichothecene wie Diacetoxyscir-  
penol, T 2-Toxin, HT 2-Toxin, Neosolaninol und Deoxyni-  
valenol (KOTSONIS et al.,1975). Eine emetische Wirkung  
dieser Trichothecene konnten von UENO et al. (1974),  
ELLISON et al. (1973), VESONDER et al. (1977), in  
Tierversuchen gezeigt werden. Dabei lagen die subkutan  
applizierten Wirkungs-dosen zwischen 0,1 und 1,0 mg/kg  
Futter. VESONDER et al. (1976), FORSYTH et al. (1977)  
extrahierten aus *F. culmorum*-Stämmen einen sogenannten  
"emetischen Faktor", der als Vomitoxin (= Deoxyniva-  
lenol) bezeichnet wurde. Nach oraler Eingabe von 7 mg

Deoxynivalenol pro Schwein erreichten sie nach 25 Minuten mehrmaliges Erbrechen.

Mais, der mit Fusarienstämmen hochgradig kontaminiert war, löste bei Mastschweinen Emesis und Futterverweigerung aus. Bei der Untersuchung zur Toxizität konnten Zearalenon (0,05 ppm bis 1,6 ppm) und Deoxynivalenol (1 ppm bis 20 ppm) als ursächlich nachgewiesen werden (LEW et al., 1979).

#### 2.4.2.1.3. Hämorrhagisches Syndrom

Nach Aufnahme von trichothecenhaltigem Futter konnten bei Schweinen, aber auch bei Rindern, ausgedehnte Blutungen in Jejunum und Ileum mit Abgang von blutigem Kot beobachtet werden (MIROCHA et al., 1976; PETRIE et al., 1977). Die klinischen Symptome dieses Syndroms, auch moldy corn disease genannt, äußern sich in blutiger Diarrhoe, Beklommenheit, schwankendem Gang und übermäßigem Durst durch Glomerulonephritis. Im Verlauf der Erkrankung kann sich ein Leukopenie-Wert von 5000 bis 6000 Leukozyten pro  $\text{mm}^3$  (Normalwert:  $\approx 12000 \text{ L./mm}^3$ ) einstellen. Häufig werden die Tiere nach kurzer Zeit (O'NEILL, 1970; PALYUSIK, 1977).

In kürzlich erschienenen Veröffentlichungen wird jedoch der syndromauslösende Charakter der Trichothecen-Toxine angezweifelt. So wurden Versuchstiere zwar mit entsprechenden Toxinen belastet, die Wirkung bei Rindern und Schweinen war jedoch nicht eindeutig (PATTERSON et al., 1979; WEAVER et al., 1978).

#### 2.4.2.2. Fusariotoxikose des Rindes —

##### Schwingelgraslahmheit (fescue foot)

In den USA tritt verschiedentlich nach Aufnahme von Wiesenschwingelgräsern (*Festuca arundinacea*) eine Erkrankung auf, die anfänglich durch eine offensichtliche Bewegungsunlust der Tiere erkennbar ist. Körpertemperatur und Atemfrequenz sind erhöht. Nach einiger Zeit stellen sich an den Gliedmaßen Paresen ein. Im Bereich der hinteren Fesselbeuge zeichnen sich Gelenksschwellungen ab und im Klauenhorn bilden sich Risse und Spalten, die teilweise zum Ausschuhlen führen können. Schließlich treten auf der Haut von Hinterextremität und Schwanzspitze trockene Gangrän auf. Todesfälle werden gelegentlich verzeichnet (YATES, 1971). Pathologisch-anatomische Untersuchungen zeigen proliferierende Entzündungen in Blutbahnen der Körperperipherie und Verdickung der Gefäßintima. Schwere Zirkulationsstörungen der Haut und der Akren sind die Folge (ROSENBERGER, 1970). Als Ursache werden mit bestimmten Fusarienarten infizierte Schwingelgräser angenommen. Stämme dieser Fusarienarten - *F. nivale*, *F. tricinctum*, *F. poae* und *F. sporotrichioides* - bildeten in Untersuchungen T 2-Toxin und Butenolid (YATES et al., 1969; TOOKEY et al., 1972; JOFFE et al., 1975). Fescue-foot-Symptome wurden durch langzeitige intramuskuläre Verabreichung von Butenolid (3,8 mg/kg Körpergewicht) bei Färsen und T 2-Toxin (0,1 mg/kg KG) bei Stieren erzeugt (GROVE et al., 1970). Gleiche Erscheinungen konnten bei Stieren auch durch orale Butenolidgaben (31 mg/kg KG), die 60 Tage lang verabreicht wurden, erzielt werden (TOOKEY et al., 1972).

#### 2.4.2.3. Fusariotoxikosen des Pferdes

##### 2.4.2.3.1. Leukoencephalomalazie

Eine Leukoencephalomalazie bei Equiden wird in vielen Ländern als Epizootie beschrieben. Die Erkrankung verläuft in Anfällen, die zwischen 4 und 24 Stunden dauern können. Die klinischen Erscheinungen äußern sich in plötzlichem ziellosen Umherwandern, unkoordinierter Kreisbewegung und Schlagen des Kopfes gegen Gegenstände. Im Verlauf eines Anfalles stürzen die Tiere nieder und wälzen sich am Boden. Dabei treten häufig tonisch-klonische Krämpfe auf. Die Körpertemperatur verbleibt im Normalbereich. Todesfälle sind nur gelegentlich zu verzeichnen (BADIALI et al., 1968). Lange Zeit wurde als Ursache für diese Erkrankung ein Virus vermutet. BADIALI et al. (1968) stellten jedoch Zusammenhänge mit verschimmeltem Futter fest. Bei Analysen von mit Schimmelpilzen infiziertem Mais wurden Fusarienstämmen der Gattung *F. moniliforme* gefunden, mit denen sich nach entsprechender Applikation vor allem bei älteren Eseln deutliche Symptome auslösen ließen (WILSON et al., 1973).

Bei Verabreichung von 0,67 bis 1,97 kg *F. moniliforme*-Extrakten mit der Nahrung pro Tier und Tag konnten nach 21 Tagen bei Pferden Leberhepatome, subkutane Ödeme, Ikterus, Petechien und Ekchymosen in verschiedenen Organen erzeugt werden. Dosen von 330 bis 440 g Kulturmateriale pro Tier und Tag, die bis zu 144 Tage lang verabreicht wurden, verursachten Encephalomalazie-Symptome. Bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung des Gehirnes wurden Kolliquationsnekrosen in der Substantia alba,

perivaskuläre Hämorrhagien, Ödeme und Plasmazell- bzw. Leukozyteninfiltrationen festgestellt (MARASAS et al., 1976). Spezielle Fusariantoxine konnten bis jetzt der Erkrankung jedoch noch nicht zugeordnet werden (PALTI, 1978).

#### 2.4.2.3.2. Bohnenhülsenvergiftung

In Japan wird seit über 70 Jahren das sporadische Vorkommen einer Krankheit bei Pferden verzeichnet, die sich in neuro-motorischen Störungen und Organschädigung äußert. Die klinischen Erscheinungen sind charakterisiert durch Krämpfe, Exzitationen, Inkoordination der Bewegungen, Störungen der Atem- und Herzfrequenz und Kreislaufstörungen. Die Körpertemperatur verbleibt im Normalbereich (UENO et al., 1972 a). Pathologisch-anatomisch werden im Gehirn venöse Hyperämien und Hämorrhagien der Leptomeninx und Nervendegenerationen in der Gehirnrinde gefunden. Des weiteren sind Zerfall von Nierentubuliepithel und Epikardepithel sowie Leberzelldegenerationen zu verzeichnen. Todesfälle werden häufig beschrieben (UENO et al., 1972 b). Die Ursache wird in verschimmelten Bohnenhülsen gesehen, die im Winter und Frühjahr fast ausschließlich an Pferde verfüttert werden. Durch späte Ernte der Bohnen (*Phaseolus vulgaris* L) während der kalten und feuchten Herbstmonate, kommt es zu massiven Kontaminationen mit Fusarien. Als häufigster Vertreter wird *F.solani* isoliert, welcher nach experimentellen Untersuchungen zur Toxizität dieser Spezies vor allem T 2-Toxin und Neosolaniol bildet. Diesen beiden Trichothecenen wird auch die Wirkung bei der Bohnenhülsenvergiftung zugeschrieben (UENO et al., 1972 b).

#### 2.4.2.4. Fusariotoxikosen des Geflügels

##### 2.4.2.4.1. Erkrankungen des Genitaltraktes

An Truthahnküken wurde Mais, der mit *F. roseum*-Stämmen kontaminiert war verfüttert; die verpilzten Rationen enthielten dabei Zearalenon in Mengen von 300 ppm bis 1600 ppm. Bei den niedrigen Toxinkonzentrationen konnte nur Anschwellen der Kloake, Zunahme von Kammgewicht und Ovarialgröße verursacht werden, bei den hohen Dosen hatten sich neben Prolaps der Kloake, vermehrt flüssigkeitsgefüllte, cystenartige Gebilde entwickelt (SPEERS et al., 1971). Vergleichbare Resultate wurden auch nach Verabreichung von reinem Zearalenon (300 ppm) an Truthahnküken erzielt, dagegen konnten bei Leghorn-Hühnern, die mit gleichen Toxinkonzentrationen gefüttert wurden, kaum signifikante Veränderungen reproduziert werden (MIROCHA et al., 1971), was eine gewisse Rassen disposition vermuten läßt (MIROCHA et al., 1971). Einfluß von Zearalenon auf die Spermiogenese wurde bei geschlechtsreifen Gänserichen nachgewiesen. Nach Applikation von toxischen *F. graminearum*-Stämmen erfolgte ein Rückgang der Spermienzahl auf ein Drittel der normal gebildeten Menge, ebenso traten vermehrt Mißbildungen an Spermien auf (PALYUSIK et al., 1975). Die Gefahr einer Schädigung durch Zearalenon scheint beim Geflügel zu bestehen, jedoch ist die Empfindlichkeit gegenüber diesem Mykotoxin vermutlich nicht so groß wie z.B. beim Schwein (MÜLLER, 1978). Die Wirkung von Trichothecen-Toxinen wurde am Beispiel T 2-Toxin untersucht. Durch Applikation von

Maisrationen, die *F. sporotrichioides*-Stämme mit einem T 2-Toxingehalt zwischen 1,5 ppm und 3 ppm enthielten, wurden bei Gänsen während der Legeperiode nachfolgend aufgeführte Veränderungen hervorgerufen: Reduzierung, bzw. Einstellung der Legeleistung nach 10 Tagen, Atrophie an Ovar und Ovidukt, sowie vermehrt Follikelatresie (PALYUSIK et al., 1975).

#### 2.4.2.4.2. Entzündungen der Mundhöhle

Bei verschiedenen Geflügelarten wurde in den USA eine epizootisch auftretende Erkrankung der Mundhöhle beschrieben (CHRISTENSEN et al., 1972; WYATT et al., 1973 a). Nach Aufnahme von Getreide, das mit T 2-Toxin bildenden Fusarienstämmen (ca. 1 mcg/g Futterration) der Sektion *Sporotrichiella* verdorben war, bildeten sich schwere Läsionen der Mundschleimhaut mit umschriebenen, proliferierten, gelblich, käsigen Auflagerungen im Schnabelwinkel, am harten Gaumen und auf der Zunge (WYATT et al., 1973 b).

CHI et al. (1977) erzielten mit einer oralen Applikationsdosis von 4 ppm T 2-Toxin bei Broilern adäquate Symptome. Ebenso bewirkte bei Gänsen die Aufnahme von Getreide, das mit *F. culmorum*-Stämmen befallt war, in Mundhöhle, Rachen und Kehlkopf flächenhafte Nekrosen und diphtheroide Beläge. Bei Untersuchungen zur Toxizität dieser Stämme wurden T 2-Toxin-Gehalte von ca. 3 ppm gefunden, wobei genannte Erkrankungserscheinungen auf die Wirkung dieses *Trichothecens* zurückgeführt wurden (PALYUSIK et al., 1975).

#### 2.4.2.4.3. Neurale Störungen

Durch T 2-Toxin können auch beim Geflügel anfallsweise neuromotorische Störungen ausgelöst werden. WYATT et al. (1973 a) verfütterten aus *F. poae*-Stämmen gewonnenes T 2-Toxin in Mengen von 4,8 und 16 mcg/g (Körpergewicht) an 1-Tage-alte Küken. Nach kurzer Zeit reagierten sie mit abnormer Flügelhaltung und Verlust des Gleichgewichtsinnes. Die Tiere konnten sich aus Rücken- oder Seitenlagen nicht mehr aufrichten und bewegten Kopf, Flügel und Beine in unkoordinierter und unkontrollierter Weise. Stärke und Dauer des Anfalls wurden entsprechend durch Toxin-konzentrationen beeinflusst. Durch laute Geräusche konnten Anfälle provoziert werden. Bei Gänsen wurden neuromotorische Störungen nachweislich, durch Aufnahme von T 2-Toxin haltiger überwinterter Gerste verursacht (PULS et al., 1976).

#### 2.4.2.4.4. Rachitische Veränderungen

In Deutschland wurde in den Jahren 1973 bis 1975 bei Mastbroilern gehäuftes Auftreten von Wachstumsstörungen festgestellt, die mit einer auffallenden Knochenweichheit verbunden war. Die Erkrankung konnte, obwohl keine Mangelerkrankungen vorherrschten, durch Vitamin D<sub>3</sub>-Gaben günstig beeinflusst werden, nicht jedoch durch Kalzium- und Phosphor-Applikationen. Bei der Untersuchung des Futters wurden Fusarienstämmen der Spezies *F. moniliforme* isoliert, die in wiederholten Experimenten einschlägige Krankheitserscheinungen bei 20-Tagen-alten Broilern hervorriefen. Histopathologische Untersuchungen zeigten unzulänglichen Knorpelaufbau, ungenügende Mineralisation

von Spongiosa und Kompakta, Ausbildung von Fasermark und teilweise granulomartige Vermehrung der Osteoklasten (GEDEK et al., 1978; KÖHLER et al., 1978). Der Nachweis spezieller Toxine mittels physikalisch-chemischer Verfahren konnte nicht erbracht werden, lediglich positiv verlaufende biologische Untersuchungen, wie Kaninchenhauttest und Zellkulturtest lieferten einen Hinweis auf vermutliches Vorkommen toxischer Metaboliten dieser Stämme (GEDEK et al., 1978; KÖHLER et al., 1978).

#### 2.4.2.5. Experimentelle Fusariotoxikose bei Fischen

Durch vermehrte Verwendung von Cerealien in pelletiertem Fertigfutter, lag die Vermutung nahe, daß durch verschimmelte Getreidebestandteile auch bei Fischen Krankheitserscheinungen ausgelöst werden (MARASAS et al., 1967). Deshalb wurde ein von *F. tricinctum* gebildetes Mykotoxin, dem Diacetoxyscirpenol chemisch verwandt, auf Pellets aufgetragen und Regenbogenforellen (*Salmo gairdnerii*) 12 Tage lang in Konzentrationen von 4 mg, 20 mg, 40 mg und 100 mg pro kg Fischgewicht verabreicht. Je nach Toxinmenge wurden unterschiedlich starke, aber signifikante Veränderungen, wie Ödeme in Körperhöhlen und Mukosa-Ablösungen im Intestinum vermerkt (MARASAS et al., 1967). In einem weiteren Versuch mit T 2-Toxin, ebenfalls aus *F. tricinctum* gewonnen, waren mit Konzentrationen von 8 mg Toxin pro kg Fischgewicht schwere Schleimhautläsionen des Verdauungstraktes zu erzeugen (MARASAS et al., 1969).

#### 2.4.2.6. Fusariotoxikosen des Menschen

##### 2.4.2.6.1. Alimentäre toxische Aleukie (ATA)

Krankheitserscheinungen, die unter den Begriff ATA fallen, sind vermutlich schon seit dem 19. Jahrhundert in den östlichen Gebieten unseres Kontinents aufgetreten. Im Frühjahr 1932 kam es bei Orenburg zu einem der massivsten ATA-Ausbrüche, bei dem bis zu 10 % aller Bewohner erkrankten. Die Mortalität lag bei 60 % (JOFFE, 1971). Die endemieartige Erkrankung verlief dabei in mehreren charakteristischen Stadien. Es wird darüber berichtet, daß nach Aufnahme von überwintertem Getreide Entzündungen im Verdauungstrakt und Fieber festzustellen waren. Starke Durchfälle und Erbrechen führten zu Kreislaufbeschwerden und Schwächeanfällen. In der Regel trat aber nach einer Woche eine Gesundung der Patienten ein.

Nach erneutem Verzehr von Getreide manifestierten sich Leukopenie, Lymphozytose und Anämie; dieses Stadium, in dem der Erkrankte schmerz- und fieberfrei war, dauerte teilweise bis zu acht Wochen. Bei fortlaufender Getreideaufnahme bildeten sich plötzlich petechiale Blutungen und Läsionen an Körper und Schleimhäuten. Vermehrte Geschwürsbildungen, die vor allem im Glottisbereich auftraten, führten bei vielen Patienten zum Erstickungstod. Herabgesetzte Resistenz erleichterte im Respirationsbereich das Angehen von Sekundärinfektionen, die ebenso zu einer erhöhten Mortalität führten. Durch langwierige symptomatische Therapie konnte bei vielen Patienten ein Gesundungsprozess eingeleitet werden (nach JOFFE, 1971).

In Untersuchungen zur Genese dieser Erkrankung wurden verschimmelte Getreidearten wie Hafer, Weizen, Gerste, Hirse und Buchweizen gefunden, die hauptsächlich mit *Fusarienspezies* *F. sporotrichioides* und *F. poae* und mit *Cladosporiumarten* infiziert waren (JOFFE, 1975). Entsprechende Untersuchungen zur Toxizität dieser beiden Arten erbrachten den Nachweis, daß von den isolierten Stämmen T 2-Toxin und Neosolaniol gebildet wurden, weshalb letztlich eine Beteiligung dieser Trichothecene am Erkrankungsgeschehen vermutet wird (UENO et al., 1972 a; MIROCHA et al., 1974 b; YAGEN et al., 1976).

#### 2.4.2.6.2. Kashin-Beck-Erkrankung (Urov's disease)

Von KASHIN 1861 das erstemal beschrieben, offenbart sich die Krankheit häufig bei Kindern durch Wachstumsstörungen, Verkrüppelungen an den Extremitäten und letztlich osteoarthritischen Deformationen. Sie kommt endemisch in Sibirien und dem Fernen Osten vor. Als Ursache wird mit *F. sporotrichiella*-Stämmen kontaminiertes Getreide vermutet. Die Wirkung von Trichothecenen wird diskutiert (ROLL, 1970).

#### 2.4.2.6.3. Akakabi-Vergiftung (red mould disease, scab)

Der Name Akakabi-byo bezeichnete ursprünglich eine in Japan vorkommende Pflanzenkrankheit (Schorfkrankheit), die durch Fusarienstämmen, wie *F. graminearum*, *F. nivale* und *F. roseum* verursacht wurde. Nachdem sich häufig schwere Vergiftungen bei Menschen (zum Teil auch bei Tieren) ereignet hatten, die Getreidearten, die mit genannten Pilzstämmen infiziert waren, verzehrt hatten,

wurde der Begriff Akakabi-byo allgemein für Intoxikationen des Menschen durch Fusarien bzw. deren Toxine verwendet (SAITO et al., 1971). Die klinischen Symptome manifestieren sich in Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und klonischen Krämpfen. Todesfälle sind nicht bekannt (UENO, 1970). Als Ursache werden die Trichothecene Fusarenon X und Nivalenol (UENO et al., 1971) angesehen. Über weitere Einzelheiten der durch Literatur belegten Fälle von Fusariotoxikosen informiert Tabelle 5.

Tabelle 5: Fusariotoxikosen bei Mensch und Tier.

| <u>Spezies</u> | <u>Fusariotoxikosen/<br/>Symptome</u>                                                                                                                                      | <u>auslösende Toxine<br/>(Konzentration)</u>                                                                                                             | <u>Spezies</u>                                                                                | <u>Autoren</u>                                                                         |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Schwein</u> | <u>Myxerösi<u>s</u></u><br>Vulvaschwellung,<br>Prolaps von Vagina<br>u. Rektum, Uterus-<br>proliferation, Fol-<br>likelatroresien, Ge-<br>störte Corpus<br>luteum-Bildung. | Zearalenon:<br>(1-5 mg/kg, KG oral)                                                                                                                      | <u>F. graminearum</u><br><u>F. roseum</u><br><u>F. sporotrichioides</u><br><u>F. culmorum</u> | MIROCHA et al., 1974a<br>KURTZ et al., 1969                                            |
| (Ferkel -w)    | Reduzierte Wurf-<br>größe.                                                                                                                                                 | (150 mg/Tier)                                                                                                                                            |                                                                                               | MIROCHA et al., 1974a                                                                  |
| (Ferkel -m)    | Vulvaschwellung.<br><br>Präputial- und<br>Zitzenanschwellung,<br>Hodenatrophie.                                                                                            |                                                                                                                                                          |                                                                                               | PALYUSIK, 1977<br>SHARMA, et al., 1974                                                 |
|                | Futterverweigerung<br><u>und Erbrechen</u> :<br>Futterproduktion,<br>Emesis, Futterver-<br>weigerung                                                                       | Diacetoxyscirpenol,<br>TZ-Toxin,<br>HT <sub>1</sub> -Toxin,<br>Neosolaniol:<br>(2,7 mg/kg, KG oral)<br><br>Deoxynivarenol =<br>Vomitoxin:<br>(7 mg/Tier) | <u>F. roseum</u><br><u>F. graminearum</u><br><u>F. culmorum</u>                               | PALYUSIK, 1977<br>KOTSONIS et al., 1975<br>UENO et al., 1974<br>VESNANDER et al., 1978 |

|                |                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                |                                                              |                                                                                |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Schwein</u> | <u>Hämorrhagien:</u><br>Blutiger Durchfall.<br>Bekommenheit, Haut-<br>geschwüre im Mund-<br>Nasenbereich. Leu-<br>kopenie (5000/mm <sup>3</sup> ).<br>Häufig Todesfälle.                                  | Fusarien-Trichothecene<br>(vermutet)                                                           | F. roseum<br>F. graminearum<br>F. culmorum                   | MIROCHA, et al., 1976<br>O'NEILL, 1970<br>PALYUSIK, 1977                       |
| <u>Rind</u>    | <u>Schwingelgras-</u><br><u>Lähmheit:</u><br>Apathie, Bewegungs-<br>unlust.<br>Nekrosen und Gangrän<br>an Hinterextremitäten<br>und Schwanzspitzen.<br>Klauehornschräden.<br>Gelegentlich Todes-<br>fälle | T2-Toxin:<br>(0,1 mg/kg KG i.m.)<br>Butenolid:<br>(3,8 mg/kg KG i.m. und<br>31 mg/kg, KG oral) | F. nivale<br>F. tricinatum<br>F. poae<br>F. sporotrichioides | YATES, 1971<br>TUCKEY et al., 1972<br>JOFFE et al., 1975<br>GROVE et al., 1970 |
|                | <u>Hämorrhagisches</u><br><u>Syndrom:</u><br>Epistaxis, Petechien<br>im Intestinum, hämhor-<br>ragische Diarrhoen.<br>Häufig Todesfälle.                                                                  | T2-Toxin:<br>(2 mg/kg KG)                                                                      | F. tricinatum                                                | PETRIE et al., 1977<br>MATTHEW et al., 1977<br>HSU et al., 1972                |
| <u>Pferd</u>   | <u>Leukoencephalomalazie:</u><br>4-24 Std.-Anfälle:<br>Manegebewegungen, Kopf-<br>schlagen, Bodenwälzen,<br>tonisch-klonische<br>Krämpfe. Normale Tempe-<br>ratur. Gelegentlich<br>Todesfälle.            | Spezielle<br>Fusarientoxine:<br>noch nicht<br>nachgewiesen.                                    | F. moniliforme                                               | BADIALI et al., 1968<br>WILSON et al., 1973                                    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                      |                                           |                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <u>Pfava</u>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Kolikulationsnekrosen der Substantia alba, perivaskuläre Blutungen, Ödeme und Zellinfiltrationen im Gehirn. Hepatome.                                                | (0,33-0,44 kg F.moniliforme-Extrakt/Tier) | MARASAS et al., 1976                        |
| <u>Bohnenhülsevenvergiftung:</u><br>Exzitationen, Bewegungsinkoordination, Krämpfe, Atem- u. Herzfrequenzstörungen. Temperatur normal.<br>Patholog.-anatom.:<br>Hyperämien und Hämorrhagien in der Leptomeninx. Nervendegeneration in der Cortex. Epithelzerstörung der Nierentubuli und des Endokards. Leberzelldegeneration. Häufig Tod. | T2-Toxin und Neosolaniol vermutet.                                                                                                                                   | F.solani                                  | UENO et al., 1972a<br>UENO et al., 1972b    |
| <u>Geflügel</u><br>(Taubhühner)                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Erkrankungen des Genitaltraktes:<br>Schwellungen des Afters und der Kloake, Zystenbildung des re. Genitaltraktes, Vergrößerung der Bursa fabricii und des Oviduktes. | Zearalenon:<br>(300 ppm-1600 ppm)         | SPEERS et al., 1971<br>MIROCHA et al., 1971 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                      | F.roseum<br>F.graminearum                 |                                             |

|             |                                                                                                                                                                                               |                                                 |                                              |                                           |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| (Gänserich) | <p>Legeleistung vermindert, bzw. hört auf.</p> <p>Atrophie von Ovar und Ovidukt. Follikelatresie.</p> <p>Reduktion der Spermienzahl, Spermienmißbildung.</p>                                  | T2-Toxin:<br>(1,5 ppm - 3 ppm)                  | F.spp.                                       | PALYUSIK et al., 1975                     |
|             | <p><u>Entzündungen der Mundhöhle:</u></p> <p>Schwere Stomatitiden mit gelblich-käsigen Belägen im Schnabelwinkel und auf der Mundschleimhaut.</p>                                             | T2-Toxin:<br>(1 mcg/g KG)<br>(4 ppm)<br>(3 ppm) | F.sporotrichioides<br>F.poae<br>F.tricinctum | PALYUSIK et al., 1975                     |
|             | <p><u>Neurale Störungen:</u></p> <p>Abnorme Flügelhaltung, Verlust des Gleichgewichtssinnes, Kopf-, Bein- und Flügelbewegungen nicht koordiniert.</p>                                         | T2-Toxin:<br>(4,8 mcg und 16 mcg/g KG)          | F.poae                                       | WYATT et al., 1973a                       |
|             | <p><u>Rachitisähnliche Veränderungen:</u></p> <p>Knochenweichheit und ungenügender Knorpelaufbau, Mineralisationsstörungen, Fasermarkbildung, granulomartige Vermehrung der Osteoklasten.</p> | Spezielle Toxine noch nicht nachgewiesen.       | F.monilliforme                               | GEDEK et al., 1978<br>KÖHLER et al., 1978 |

Fortsetzung Tabelle 5

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                   |                                                                                  |                                                                                                                                                                 |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Fisch</u>  | <u>Trichothecen-Vergiftung:</u><br>Hautödeme, seröse Körperhöhlenergüsse, Desquamation der Intestinalmukosa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Mycotoxin (Diacetoxyscirpenolähnlich):<br>(4 mg - 100 mg/kg KG)<br>T2-Toxin:<br>(8 mg/kg KG)                                      | F.tricinatum<br>F.tricinatum                                                     | MARASAS et al., 1967<br>MARASAS et al., 1969                                                                                                                    |
| <u>Mensch</u> | <u>Alimentäre toxische Alëukie:</u><br>1. Stadium:<br>Entzündung des gesamten Verdauungstraktes. Salivation, Schwächeanfalle, Benommenheit. Leukopenie.<br>2. Stadium:<br>Leukopenie, Lymphozytose, Anämie.<br>3. Stadium:<br>Petechien, Ekchymosen am ganzen Körper und in Organen. Sekundärinfektionen. Hohe Mortalität.<br>Rekonvaleszenz.<br><u>Kashin-Beck-Erkrankung:</u><br>Skelettdeformation häufig bei Kindern.<br><u>Akaki-Vergiftung:</u><br>Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoen, Kopfschmerzen und Krämpfe. | Fusarien-Trichothecene: vermutlich T2-Toxin und Neosolaniol.<br><br>Fusarien-Trichothecene: vermutlich Nivalenol und Fusarenol X. | F.poae<br>F.sporotrichioides<br><br>F.sporotrichioides<br><br>F.sporotrichioides | JOFFE, 1971<br>UENO et al., 1972a<br>MIROCHA et al., 1974b<br>YAGEN et al., 1976<br><br>ROLL, 1970<br><br>SAITO et al., 1971<br>UENO, 1970<br>UENO et al., 1971 |

### 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1. Material und Methoden

##### 3.1.1. Herkunft der Fusarienstämmе

Es wurden insgesamt 110 Stämme der Gattung *Fusarium* auf ihr Toxinbildungsvermögen untersucht; 107 waren dazu aus 89 Futtermittelproben der Jahrgänge 1975, 1976, 1977 und 1978 isoliert worden, die zur Diagnostik an das Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Fakultät Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität eingesandt worden waren.

Einbezogen zur Untersuchung waren auch drei Referenzstämmе vom Northern Regional Research Laboratory, U.S. Department of Agriculture, Peoria, Illinois, USA.

Bei den Futtermitteln handelte es sich um Proben unterschiedlicher Art und Provenienz. Zum größten Teil stammten sie jedoch aus der Bundesrepublik Deutschland (vergl. Tabelle 6).

Tabelle 6:           Angaben über Untersuchungsmaterial der  
Jahre 1975 bis 1978, aus dem die Fusa-  
rienstämme isoliert worden waren.

| Untersuchungs-<br>material                                                          | Anzahl der<br>Proben | Isolierte<br>Stämme | Herkunft der Proben                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|---------------------|------------------------------------------|
| Hafer                                                                               | 15                   | 19                  | BRD(14), Österreich(1)                   |
| Gerste                                                                              | 7                    | 8                   | BRD (6), Österreich(1)                   |
| Weizen                                                                              | 16                   | 20                  | BRD(15), Österreich(1)                   |
| Mais                                                                                | 27                   | 34                  | BRD(24), Österreich(2)<br>Jugoslawien(1) |
| Mischfutter                                                                         | 20                   | 22                  | BRD(16), Österreich(4)                   |
| sonstige<br>Futtermittel<br>(Getreidem-<br>ischung, Soja,<br>Eiweißkon-<br>zentrat) | 4                    | 4                   | BRD(4)                                   |

### 3.1.2. Isolierung, Konservierung und Identifizierung

Die Stämme wurden nach der Isolierung aus dem Untersuchungsmaterial auf Kartoffel-Glucose-Agar (Merck, Art. 10130) überimpft und bei Zimmertemperatur 10 Tage bebrütet. Ein Teil der Stämme wurde auf Pepton-PCNB-Agar angezüchtet, einem Selektivnährboden, auf dem fast ausschließlich Fusarien zur Entwicklung kommen (GAMS et al., 1975), ansonsten waren sie mit den Keimzählungsmedien erfaßt worden. Nach Bildung von fruktifizierendem Mycel, wurden die Pilzkulturen mit 5 ml sterilem Aqua dest. abgeschwemmt, in kleine sterile Glasfläschchen abgefüllt und im Kühlschrank bei + 4° C gelagert (MCGINNIS et al., 1974).

Die Identifizierung der einzelnen Fusarienstämme erfolgte aufgrund ihrer mikroskopischen und makroskopischen Morphologie, im Vergleich zu bereits bestimmten Stämmen.

19 Stämme wurden zur Bestimmung dem Centraalbureau voor Schimmelkultures, Baarn, Niederlande zugeschickt.

### 3.1.3. Untersuchung der Fusarienstämme auf die Befähigung zur Bildung von Mykotoxinen

#### 3.1.3.1. Anreicherung im YES-Medium

Alle 110 Stämme wurden dazu im YES-Medium kultiviert. YES-Medium (enthaltend: 15 g Saccharose, reinst - Merck, Art. 7653 -, 2 g Yeast-Extract - Difco Nr. 012702 - und 100 ml Aqua dest.) ist als geeignetes Anreicherungsmedium für sekundäre

Pilzmetaboliten beschrieben (DAVIS et al., 1966; SCOTT et al., 1970; KÖHLER et al., 1978).

Dazu wurden 25 ml dieses flüssigen Nährmedium in sterile Vierkantflaschen nach Breed-Demeter pipettiert, mit 0,1 ml homogener Sporensuspension beimpft und mit sterilen Zellstoffstopfen verschlossen. Jeder Stamm wurde doppelt angesetzt. Die Kulturen wurden 21 Tage bei Zimmertemperatur bebrütet.

### 3.1.3.2. Extraktion der YES-Kulturen

Die Extraktion der Kulturen erfolgte in zwei Stufen. Zuerst wurden die Kulturen nach mechanischer Zerkleinerung des Mycels in einem Erlenmeyerkolben durchgeführt und mit 100 ml eines 1 : 1-Gemisches von Chloroform (Merck, Art. 2445) und Aceton (Merck, Art. 14) 30 min geschüttelt. Der Inhalt des Erlenmeyerkolbens wurde in einen Scheidetrichter filtriert, die Chloroform-Aceton-Phase in einem Standkolben aufgefangen und mittels eines Rotationsverdampfers völlig eingeeengt. Anschließend wurde die wässrige Phase (YES-Medium) und Mycel erneut 30 min mit 100 ml Methanol (Merck, Art. 6012) in einem Kolben geschüttelt. Dabei sollte vorallem eventuell vorhandenes Moniliformin extrahiert werden (COLE et al., 1973). Das dabei entstehende Methanol-YES-Medium-Gemisch wurde danach in einer Natriumsulphat-Säule (50 g  $\text{NaSO}_4$ , wasserfrei, Merck, Art. 6649) weitgehend vom Wasser befreit und mittels Rotationsverdampfer völlig eingeeengt.

### 3.1.3.3. Untersuchung der Rohextrakte

#### 3.1.3.3.1. Physikalisch-chemisches Verfahren: Dünnschichtchromatographie

Die Untersuchung erstreckte sich jeweils auf folgende Mykotoxine: Diacetoxyscirpenol (Makor Chemicals Ltd., Jerusalem), T 2-Toxin (M.C. Ltd., Jerusalem), Zearalenon (M.C. Ltd., Jerusalem), HT 2-Toxin<sup>Ⓢ</sup>, Deoxynivalenol<sup>Ⓢ</sup>, Neosolaniol<sup>Ⓢ</sup>, Fusarenon X<sup>Ⓢ</sup> und Moniliformin<sup>ⓈⓈ</sup>. Zum Nachweis von Moniliformin kamen HPTLC-Fertigplatten, Kieselgel 60, 10 x 10 cm (Merck, Art. 5628) mit Fluoreszenzindikator zur Anwendung; für Trichothecene und Zearalenon wurden DC-Fertigplatten Kieselgel 60, 20 x 20 cm (Merck, Art. 5721) ohne Fluoreszenzindikator benützt.

Mit einer Finnpipette wurden von den, in einem Milliliter Methanol, bzw. Chloroform gelösten Extrakten 25 µl und von den Mycotoxinstandards 10 µl aufgetropft. Die Entwicklung der DC-Platten erfolgte ein- und zweidimensional in folgenden Fließmittelsystemen:

TEF: Toluol (Merck, Art. 8325), Essigsäureäthylester (Merck, Art. 9623) und Ameisensäure (Merck, Art. 264), 100:80:20, (SCOTT et al., 1970).

BA : Benzol (Merck, Art. 1783) und Aceton (Merck, Art. 14), 120:80, (UENO et al., 1973 b).

CAH: Chloroform (Merck, Art. 2445), Aceton und Hexan (Merck, Art. 4368), 142:25:33, (STEFANIAK, 1969).

---

Ⓢ Ich danke Herrn Professor Y. Ueno, Tokio, für die Überlassung von Referenzsubstanzen dieser Toxine.

ⓈⓈ Ich danke Herrn Dr. R. Cole, Dawson, USA, für die Überlassung von Moniliformin-Standard.

CAM: Chloroform, Aceton und Methanol (Merck, Art. 6012), 86:100:14, (COLE et al., 1973).

CA : Chloroform und Methanol, 120:80, (KRIEK et al., 1977).

Neben dem Rf-Wert (Laufweite) war ein weiteres Kriterium zur Identifizierung der einzelnen Mykotoxine, die Farbe, bzw. der Farbumschlag nach 10 bis 20 minütiger Erhitzung bei + 120° C der DC-Platten, nach Besprühen mit folgenden Reagenzien:

p-Anisaldehyd-Reagenz (SCOTT et al., 1970):

0,5 ml p-Anisaldehyd (Merck, Art. 822314)

85 ml Methanol

10 ml Eisessig (Merck, Art. 61)

5 ml Schwefelsäure (konz.) (Merck, Art. 731)

25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Reagenz (UENO et al., 1973 b):

25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck, Art. 716)

Sprühverfahren nach SARUDI (1974):

1. 1 % wässrige Methoxy-benzol-diazonium-fluoroborat-Lösung (MBDF)

100 mg MBDF (Reanal)

10 ml Aqua dest.

2. 0,1 n Kaliumhydroxyd-Lösung, äthanolisch (KOH), (Merck, Art. 9115)

3. 50 % Äthanol-Schwefelsäure-Lösung (Äth. S.)

5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (konz.) (Merck, Art. 731)

5 ml Äthanol (Merck, Art. 972)

keine Erhitzung der DC-Platten

Ninhydrin-Reagenz (LANSDEN et al., 1974):

20 mg Ninhydrin (Serva)

10 ml Äthanol

0,32 % 2,4-Dinitro-phenylhydrazin-Reagenz (DPH) (KRIEK et al., 1977):

47 mg DPH (Serva)

10 ml 8 n-Salzsäure (Merck, Art. 316)

Tabelle 7: Dünnschichtchromatographische Nachweiskriterien von Fusarientoxinen

| Toxine             | Fließ-<br>mittel | Rf-<br>Wert          | Nachweis-<br>grenze<br>(mcg/Spot) | Farbe<br>Tageslicht:UV,Licht                            | Sprüh-<br>reagenzien                          | Farbe nach Besprühen<br>Tageslicht:UV,Licht<br>(350nm) | Autor                                     |
|--------------------|------------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Diacetoxyscirpenol | TEF<br>BA<br>CAH | 0,33<br>0,59<br>0,28 | 0,50                              |                                                         | p-Anis-ald.<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | braun : blau<br>braun : blau                           | SCOTT et al., 1970<br>MANABE et al., 1974 |
| T2-Toxin           | TEF<br>BA<br>CAH | 0,36<br>0,62<br>0,26 | 0,07-0,10                         |                                                         | p-Anis-ald.<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | braun : blau<br>braungrau : blau                       | SCOTT et al., 1970<br>MANABE et al., 1974 |
| HT2-Toxin          | BA<br>CAH        | 0,30<br>0,03         | 0,10-0,20                         |                                                         | p-Anis-ald.<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | grau : dunkelrot<br>grau : hellblau                    | PATRE et al., 1977<br>UENO et al., 1973b  |
| Fusarenon X        | BA<br>CAH        | 0,41<br>0,07         | 2,0-3,0                           |                                                         | p-Anis-ald.<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | hellgelb : hellblau<br>braun : hellblau                | UENO et al., 1973b<br>PATRE et al., 1977  |
| Deoxynivalenol     | BA<br>CAH        | 0,29<br>0,03         | 1,0-1,5                           |                                                         | p-Anis-ald.<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | hellgelb : hellblau<br>braun : hellblau                | PATRE et al., 1977<br>UENO et al., 1973b  |
| Neosolaniol        | BA<br>CA         | 0,34<br>0,06         | 0,07-0,10                         |                                                         | p-Anis-ald.<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | dunkelrot : hellblau<br>grau : hellblau                | PATRE et al., 1977<br>UENO et al., 1973b  |
| Zearalenon         | TEF<br>CAH       | 0,78                 | 0,10-0,50                         | 350nm:<br>hellblau<br>254nm:<br>blaugrün<br>(DC-Platte) | 1. MBDF<br>2. 0,1n KOH<br>3. 50% Äth/S        | 1. ziegelrot<br>2. gelbrot<br>3. lila                  | SARUDI et al., 1974<br>PATRE et al., 1977 |
| Moniliformin       | CA<br>CAM        | 0,65<br>0,18         | 0,10-0,70                         | 254nm:<br>grau<br>(HPTLC-Platte)                        | DPH<br>Ninhydrin                              | rotbraun<br>gelb                                       | KRIEK et al., 1977<br>COLE et al., 1973   |

Die Platten wurden bei Tageslicht und unter der UV-Lampe bei 254 nm und 350 nm ausgewertet. Nachweiskriterien für Fusarientoxine sind in der Tabelle 7 zusammengestellt.

### 3.1.3.3.2. Biologische Verfahren

#### 3.1.3.3.2.1. Hauttoxizitätstest

Als Versuchstiere wurden weibliche Albino-Meerschweinchen eingesetzt, die sich als äußerst empfindlich für Trichothecene erwiesen haben (UENO et al., 1970).

Nachdem der Rücken der Tiere mit einem elektrischen Rasierapparat und einer Haarentfernungscreme (Pilca) enthaart worden war, wurde pro Test 1 mg Rohextrakt, gelöst in 0,01 ml Methanol, mittels eines Applikators (eine U-förmig gebogene Öse) auf eine Hautfläche von ca.  $1/4 \text{ cm}^2$  aufgetragen (WEI et al., 1972). Nach 24, 48, 72 und 120 Stunden wurden die Tiere auf Hautreaktionen untersucht. Die positiven Reaktionen wurden nach den Entzündungserscheinungen - Rubor, Dolor, Calor, Tumor und Functio laesa - in folgende Grade eingeteilt:

1. Rötung mit klarer Demarkation, erhöhte Sensibilität (+)
2. Starke Rötung, Schwellung, erhöhte Sensibilität (++)
3. Starke Rötung, Ödeme, Induration, Nekrose (+++)

In einem Vorversuch wurde die Empfindlichkeit des Testsystems mit den Toxinen Diacetoxyscirpenol und T 2-Toxin bestimmt. Folgende Toxinmengen, gelöst in 10 µl Methanol, wurden getestet: 1,0, 0,1, 0,01, 0,05 und 0,001 µg Toxin. Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, liegen die Empfindlichkeitsgrenzen bei 0,01 µg T 2-Toxin pro Spot und bei 0,1 µg Diacetoxyscirpenol pro Spot.

Tabelle 8: Reaktion im Hauttoxizitätstest mit  
Diacetoxyscirpenol und T 2-Toxin.

| Kontrolle<br>nach (h): |   | Verdünnung (mcg/10 mcl Methanol) |     |      |      |       |
|------------------------|---|----------------------------------|-----|------|------|-------|
|                        |   | 1,0                              | 0,1 | 0,01 | 0,05 | 0,001 |
| 24                     | ~ | +++                              | +   | -    | -    | -     |
|                        | T | +++                              | +++ | +    | -    | -     |
| 48                     | D | +++                              | ++  | -    | -    | -     |
|                        | T | +++                              | +++ | -    | -    | -     |
| 72                     | D | +++                              | ++  | -    | -    | -     |
|                        | T | +++                              | +++ | -    | -    | -     |

### 3.1.3.3.2.2. Zellkulturtest

Die Herstellung der Zellkulturen erfolgte nach Angaben von MAYR et al., (1974).

In einem Vorversuch wurde die Sensibilität von zwei Arten von Primärkulturen und zwei Zelllinien gegenüber den Mykotoxinen, Diacetoxyscirpenol und T 2-Toxin, getestet. Tabelle 9 gibt Auskunft über die Art der verwendeten Zellkulturen.

Die Toxine Diacetoxyscirpenol und T 2 wurden, in einer Verdünnungsreihe von 1:10, in Mengen von 10 mcg bis 0,001 mcg pro Milliliter Zellkulturmedium mit 1 % DMSO als Lösungsvermittler auf die Zellen pipettiert. Die Toxinapplikation erfolgte sowohl bei der Zelleinsaat, als auch nach Ausbildung eines dichten Zellrasens. Es ergab sich, hinsichtlich der zeitlich versetzten Toxinzugabe, kein Unterschied.

Tabelle 9: Zellkulturen für den Vorversuch

| Zellkulturart  | Herkunft            | Morphologie                            |
|----------------|---------------------|----------------------------------------|
| Primärkulturen |                     |                                        |
| KH             | Rinderhoden (embr.) | fibroblasten-<br>ähnlich<br>epitheloid |
| ENK            | Rinderniere (embr.) |                                        |
| Zelllinien     |                     |                                        |
| MDCK           | Hundeniere          | epitheloid                             |
| AUBEK          | Rinderniere         | epitheloid                             |

Wie aus den Abbildungen 6 und 7 hervorgeht, erwies sich die Zelllinie MDCK als das empfindlichste Zellsystem für die getesteten Trichothecene. Diese Zelllinie wurde deshalb als Testsystem für die Rohextrakte gewählt.

Jeder Rohextrakt wurde in Zellflüssigkeit durch Zusatz von 1 % DMSO (Dimethylsulfoxid, getrocknet, Merck, Art. 2931) so gelöst, daß sich pro Milliliter Konzentrationen von 100, 50, 25, 12,5 und 6,25 mcg einstellten. Als Kontrolle diente Zellkulturflüssigkeit mit 1 % DMSO. Die Zellen wurden nach 24, 48 und 72 Stunden nach Extraktapplikation auf Veränderungen untersucht und diesen drei Gruppen zugeteilt.

1. Gruppe: Zerstörte Zellen, Lysis.
2. Gruppe: Zellen mit abnormer Gestalt, Abkugelungen, Plasmaschrumpfung, beginnende Zellablösung.
3. Gruppe: Unveränderte Zellen.

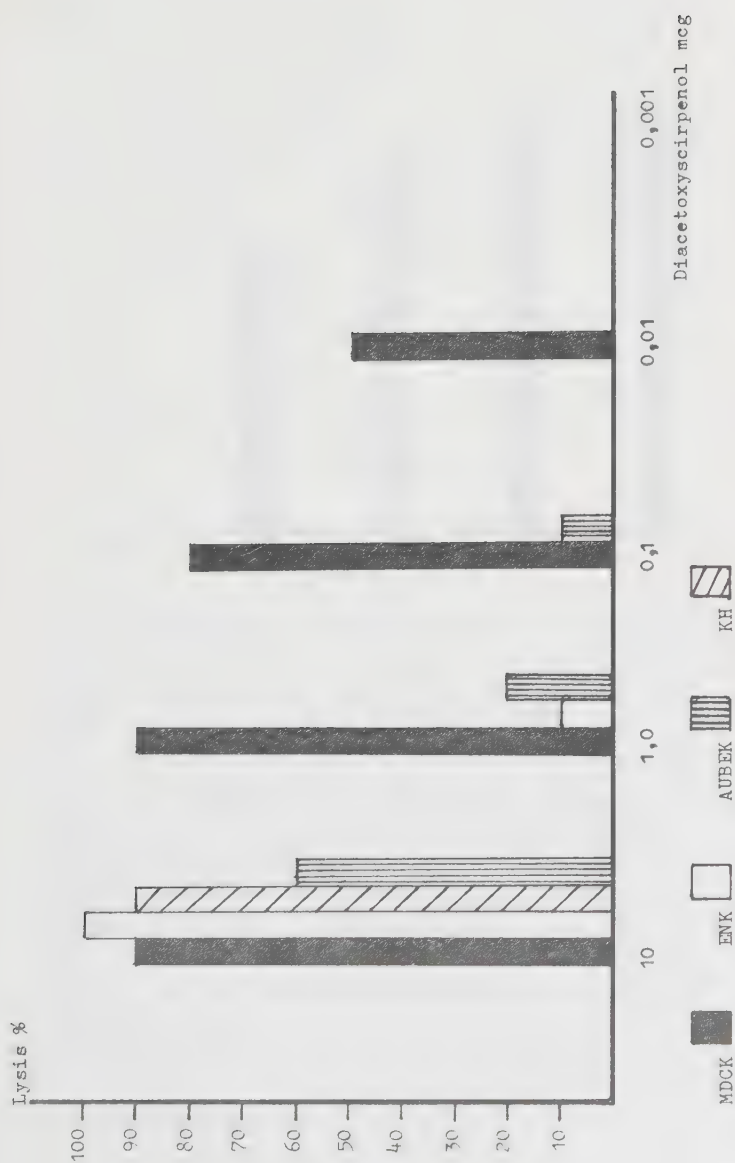


Abbildung 6: Empfindlichkeitsvergleich zwischen vier verschiedenen Zelllinien bei Zusatz von Diacetoxyscirpenol (Toxinzugabe nach vollständiger Ausbildung des Zellrasens).

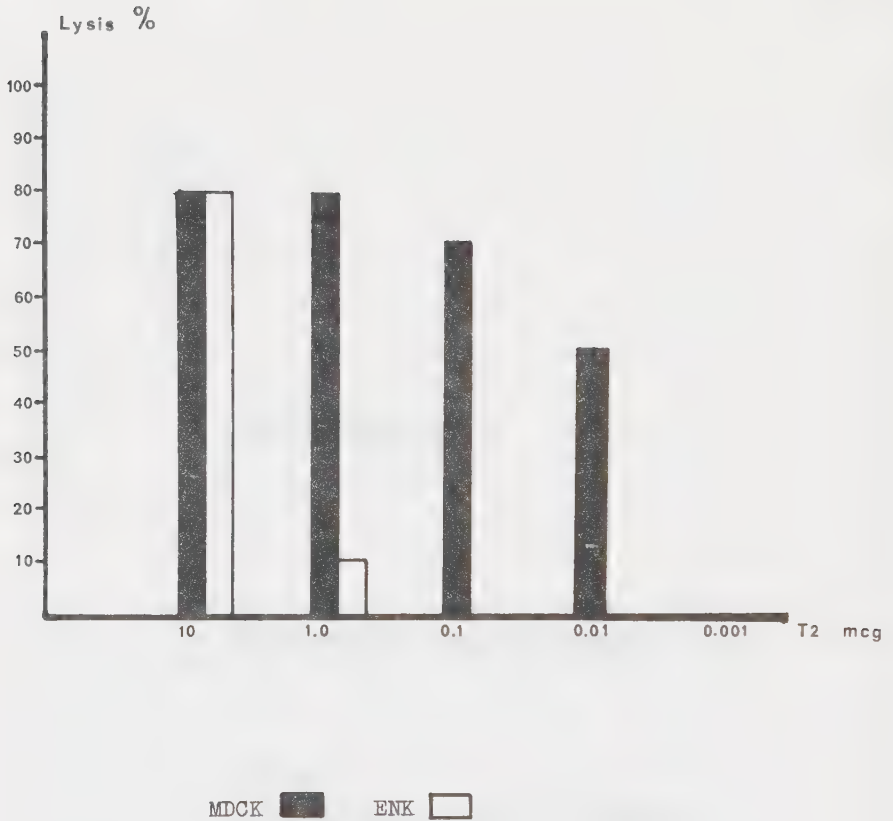


Abbildung 7: Empfindlichkeitsvergleich zwischen Zelllinien bei Zusatz von T 2-Toxin.  
(Toxinzugabe nach vollständiger Ausbildung des Zellrasens.)

Um die morphologisch nicht eindeutigen Unterschiede zwischen Zellen der Gruppe 2 und 3 feststellen zu können, wurde nach 72 Stunden eine Vitalfärbung mit Neutralrot durchgeführt (MAYR et al., 1974). Neutralrot wird je nach Grad der Stoffwechselschädigung, in unterschiedlicher Menge von den Zellen aktiv aufgenommen, wobei tote Zellen farblos bleiben. Folgende Kriterien wurden bei einer Zellveränderung beachtet:

1. Menge und Lage der aufgenommenen Farbgranula.
2. Form des Zelleibes.
3. Form und Lage des Zellkernes.
4. Kern-Plasma-Relation

#### 3.1.3.3.2.3. Hühnerembryotest

Die Durchführung des Hühnerembryotestes erfolgte nach der von GEDEK (1972) beschriebenen Methode. Die Luftkammern von befruchteten Hühnereiern der Rasse - WEISSES LEGHORN -, der Linien M x k und k x k, wurden mit 250, 125 und 60 mcg Rohextrakt, gelöst in DMSO und sterilem Aqua dest. (1:1), in einer Menge von 0,1 ml pro Ei beimpft. Pro Verdünnungsstufe wurden 20 Eier verwendet. Als Kontrolle dienten 20 Eier beimpft mit DMSO und Wasser (1:1) und 20 unbeimpfte Eier. Die beimpften Eier wurden 14 Tage bei + 37° C bebrütet und am 6., 10. und 14. Tag nach abgestorbenen Embryonen durchleuchtet.

In einem Vorversuch wurde der Lösungsvermittler DMSO

auf seine Toxizität gegenüber Hühnerembryonen getestet. Jeweils 20 befruchtete Eier wurden mit 50 %, 25 %, 12,5 % und 6,25 % DMSO, gelöst in sterilem Aqua dest., mit einer Applikationsmenge von 0,1 ml pro Ei, beimpft. Bei einer Bebrütungszeit von 14 Tagen (Temperatur: + 37° C) wurden die Eier am 6., 10. und 14 Tag durchleuchtet. Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, ist DMSO in den getesteten Konzentrationsstufen für Hühnerembryonen nicht toxisch

Tabelle 10: Toxizität von DMSO im Hühnerembryotest.

| DMSO/Ei<br>(%)         | Abgestorbene Embryonen<br>am: (d) |     |     | Überlebende |
|------------------------|-----------------------------------|-----|-----|-------------|
|                        | 6.                                | 10. | 14. |             |
| 50                     | 2                                 | -   | -   | 18          |
| 25                     | 1                                 | -   | -   | 19          |
| 12,5                   | 1                                 | -   | -   | 19          |
| 6,25                   | 1                                 | -   | -   | 19          |
| Kontrolle<br>unbeimpft | 1                                 | -   | -   | 19          |

### 3.2. Ergebnisse und deren Besprechung

#### 3.2.1. Differenzierung der untersuchten Fusarienstämmе

Die Untersuchung der 107 Fusarienstämmе auf ihre Artzugehörigkeit ergab, daß die am häufigsten isolierten Arten *F. moniliforme* mit 52 Stämmen (= 48,5 %) und *F. poae* mit 37 Stämmen (= 34,5 %) waren. Die restlichen Stämme wurden als *F. culmorum* (7 Stämme), *F. tabacinum* (3 Stämme), *F. avenaceum* und *F. graminearum* (je 2 Stämme) bestimmt; je ein Stamm gehörte den Arten *F. oxysporum*, *F. tricinctum*, *F. acuminatum* und einer nicht zu bestimmenden Fusarienspezies (*F. sp.*) an (vergl. Tabelle 11).

#### 3.2.2. Resultate der Dünnschichtchromatographie

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der drei Referenzstämmе zeigte, daß in Extrakten von diesen die in der Literatur beschriebenen Toxine - Fusarenon X, Diacetoxyscirpenol, T 2-Toxin, HT 2-Toxin und Neosolaniol - nachzuweisen waren, so daß damit die Eignung der verwendeten Methoden als erwiesen angesehen werden konnte.

Von den 107 isolierten Stämmen erwiesen sich 33 Stämme (= 30,8 %) als Bildner eines oder mehrerer der gesuchten Mykotoxine. Toxine aus der Gruppe der Trichothecene konnten 36 mal nachgewiesen werden, wobei Diacetoxyscirpenol 28 mal, Neosolaniol 4 mal, Fusarenon X 2 mal und T 2-Toxin und HT 2-Toxin jeweils 1 mal identifiziert werden konnten. Die Resorcyclat-Verbindung Zearalenon wurde in 4 Extrakten festgestellt (vergl. Tabelle 12). Moniliformin war in keinem Fusarienextrakt zu finden.

Tabelle 11: Spezieszugehörigkeit und Herkunft der untersuchten Fusarienstämmе aus Futtermitteln.

| Spezies       | Hafer | Gerste | Weizen | Mais | Misch-<br>futter | sonst.<br>Futter |
|---------------|-------|--------|--------|------|------------------|------------------|
| F.moniliforme | .     | .      | 3      | 31   | 15               | 3                |
| F.poaе        | 15    | 4      | 12     | 3    | 2                | 1                |
| F.avenaceum   | .     | 2      | .      | .    | .                | .                |
| F.acuminatum  | 1     | .      | .      | .    | .                | .                |
| F.graminearum | .     | .      | 1      | .    | 1                | .                |
| F.culmorum    | 1     | 2      | 2      | .    | 2                | .                |
| F.tabacinum   | 1     | .      | 1      | .    | 1                | .                |
| F.oxysporum   | .     | .      | .      | .    | 1                | .                |
| F.tricinctum  | 1     | .      | .      | .    | .                | .                |
| F.sp.         | .     | .      | 1      | .    | .                | .                |

Tabelle 12: Anzahl toxinbildender Fusarienstämmе, nachgewiesene Mykotoxine und Vorkommen in Futtermitteln.

| Spezies       | Toxinspektrum                          | Hafer | Gerste | Weizen | Mais | Misch-<br>futter | sonst.<br>Futter |
|---------------|----------------------------------------|-------|--------|--------|------|------------------|------------------|
| F.poaе        | Diacetoxyscirpenol                     | 10    | 2      | 7      | 2    | 1                | 1                |
|               | Diacetoxyscirpenol,<br>Neosolaniol     | 1     | .      | 1      | 1    | .                | .                |
|               | Diacetoxyscirpenol,<br>Fusarenon X     | 1     | 1      | .      | .    | .                | .                |
| F.acuminatum  | Neosolaniol,<br>T2-Toxin,<br>HT2-Toxin | 1     | .      | .      | .    | .                | .                |
| F.culmorum    | Zearalenon                             | 1     | 1      | .      | .    | 1                | .                |
| F.graminearum | Zearalenon                             | .     | .      | 1      | .    | .                | .                |

Bei visueller Auswertung von entwickelten DC-Platten war eine unterschiedlich starke Farbintensität der Mykotoxinspots auffällig. Als Wertmaß - schwach, mittel, stark - wurde die Farbintensität der Vergleichstoxinstandards herangezogen (vergl. Tabelle 13). Bezüglich der Verteilung der toxinbildenden Fusarienstämmen auf das gesamte Untersuchungsmaterial, stellten sich die Stämme von *F. poae* als dominierende Trichothecenbildner heraus. Sie waren am meisten aus Hafer und Weizen isoliert worden. Die Zearalenon-produzierenden Stämme *F. culmorum* (3 mal) und *F. graminearum* (1 mal) stammten aus sehr verschiedenen Futtermitteln. Stämme von *F. moniliforme* hatten, ohne daß toxische Stoffwechselprodukte im DC-Gramm nachgewiesen werden konnten vornehmlich Mais und Mischfutter befallen (vergl. Abbildung 8).

Tabelle 13: Positive Reaktion und Farbintensität nach Behandlung mit Sprühreagenz zum Nachweis von Trichothecen

| Spezies              | Toxin-<br>spektrum                     | Anzahl der Stämme<br>Farbintensität |        |       |
|----------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|--------|-------|
|                      |                                        | schwach                             | mittel | stark |
| <u>F.poa:</u>        |                                        |                                     |        |       |
|                      | Diacetoxyscirpenol                     | 9                                   | 7      | 7     |
|                      | Diacetoxyscirpenol,<br>Neosolaniol     |                                     |        | 3     |
|                      | Diacetoxyscirpenol,<br>Fusarenon X     |                                     |        | 2     |
| <u>F.acuminatum:</u> |                                        |                                     |        |       |
|                      | Neosolaniol,<br>T2-Toxin,<br>HT2-Toxin |                                     |        | 1     |

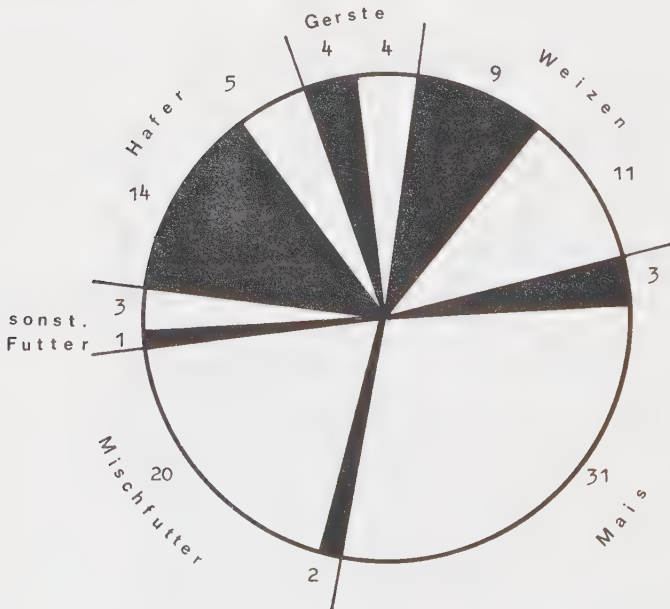


Abbildung 8: Verteilung der toxinbildenden (schwarze Sektoren) Fusarienstämmen auf das gesamte Untersuchungsmaterial.

### 3.2.3. Resultate des Hauttoxizitätstests

Bei der Prüfung der Rohextrakte aller Fusarienstämmen im Hauttoxizitätstest konnte jeder mittels DC-Verfahren geführte Trichothecen-Nachweis bestätigt werden. Lediglich ein Extrakt eines *F. poae*-Stammes (2/78) verursachte eine positive Hautreaktion, ohne daß ein bekanntes Mykotoxin bei der DC-Analyse zu finden war. Für alle anderen Fusarienextrakte lieferte der Dermaltest ein negatives Ergebnis.

Die Hautveränderungen waren unterschiedlich in Bezug auf das jeweilige Ausmaß der Entzündung. Drei verschiedene Arten von Reaktionen ließen sich dabei gegeneinander abgrenzen, von schwach über mittelgradig bis hochgradig (vergl. Tabelle 14). Von 30 im Hauttoxizitätstest positiven Extrakten erwiesen sich über die Hälfte (53,3 %) als stark dermatotoxisch und reagierten hochgradig. Zehn dieser Extrakte hatten nur Diacetoxy-scirpenol und sechs Extrakte verschiedene Trichothecene nebeneinander aufgewiesen. Bei 20 % der Diacetoxy-scirpenol haltigen Extrakte ergab sich eine mittelgradige Entzündungsreaktion. 26,7 % der übrigen Extrakte mit Diacetoxy-scirpenol und von dem *F. poae*-Stamm 2/78 waren nur als schwach hauttoxisch anzusprechen (vergl. Tabelle 15).

Abbildung 9 gibt die Ergebnisse im Vergleich zu den Resultaten wieder, die mit bekannten Konzentrationen der reinen, als Standards verwendeten Toxine - Diacetoxy-scirpenol, T 2-Toxin - erhalten wurden, die erlauben würden, eine semiquantitative Auswertung vorzunehmen.

Tabelle 14: Entzündungsverlauf und Heftigkeit der Reaktion bei der Prüfung von Fusarien-extrakten im Hauttoxizitätstest.

| Reaktion im<br>Hauttoxizitätstest | Anzahl<br>positiver<br>Extrakte | Entzündungsverlauf<br>(d) |     |     |     |
|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------|-----|-----|-----|
|                                   |                                 | 24                        | 48  | 72  | 120 |
| hochgradig                        | 16                              | +++                       | +++ | +++ | +++ |
| mittelgradig                      | 6                               | ++                        | +++ | ++  | +   |
| schwach                           | 8                               | +                         | ++  | +   | (+) |

Tabelle 15: Aufschlüsselung der Ergebnisse des Hauttoxizitätstests unter Berücksichtigung der im Extrakt dünn-schichtchromatographisch nachgewiesenen Trichothecene.

| Spezies<br>/ analysierte<br>Toxine                               | Anzahl der Extrakte mit entsprechender<br>Entzündungsreaktion |              |           |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------|-----------|
|                                                                  | hochgradig                                                    | mittelgradig | schwach   |
| <u>F.poae:</u><br>Diacetoxyscirpenol                             | 10 (33,3%)                                                    | 6 (20%)      | 7 (23,3%) |
| Diacetoxyscirpenol,<br>Neosolaniol                               | 3 (10%)                                                       |              |           |
| Diacetoxyscirpenol,<br>Fusarenon X                               | 2 (6,6%)                                                      |              |           |
| <u>F.acuminatum:</u><br>Neosolaniol,<br>T22-Toxin,<br>HT 2-Toxin | 1 (3,3%)                                                      |              |           |
| <u>F.poae:</u><br>kein spezielles<br>Toxin                       |                                                               |              | 1 (3,3%)  |

Schweregrade  
der Entzündung

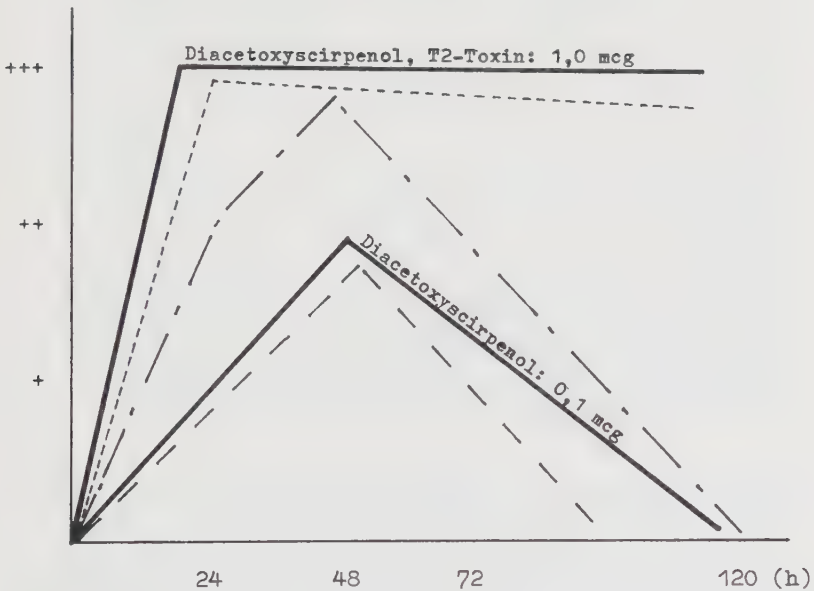


Abbildung 9: Entzündungsverlauf und Schweregrad der Entzündung bei der Testung von Extrakten der geprüften Fusarienstämmen im Vergleich zu Toxinstandards.

Extrakte mit hochgradiger Reaktion: -----  
Extrakte mit mittelgradiger Reaktion: - . - .  
Extrakte mit schwacher Reaktion: - - -

### 3.2.4. Resultate des Zellkulturtests

Die Ergebnisse, die bei Verimpfung von abgestuften Mengen der Fusarienextrakte auf Hundenierenkulturen (MDCK-Zellen) erzielt wurden, gibt Tab. 16 wieder. Nach 24 und 48 Stunden war der Zellrasen auf cytotoxische Veränderungen untersucht worden, wobei der endgültige Prozentsatz an zerstörten Zellen ( $CT_{50}$ ) nach 48 Stunden ermittelt wurde. Danach konnte in allen Extrakten mit dünnschichtchromatographisch ermittelten Trichothecenen eine von der Menge abhängige  $CT_{50}$  festgestellt werden. Aufgrund dieser Dosis-Wirkungs-Relation erfolgte, ähnlich wie im Hauttoxizitätstest eine Differenzierung der Reaktion und zwar je nachdem, ob bei 100 mcg/ml (= gering), 50 mcg/ml (= mittel) oder 25 mcg/ml (= hoch) eine Cytotoxizität festzustellen war. Als schwach zelltoxisch konnte der *F. poae*-Extrakt 2/78 eingeordnet werden. Cytopathogene Effekte konnten bei den dem DC-Gramm nach negativen anderen Fusarienextrakten nicht festgestellt werden.

Tabelle 16: Cytotoxizität ( $CT_{50}$ ) der Extrakte aus Fusarienstämmen nach Vorkultur in YES-Medium.

| Spezies analysierte<br>Toxine       | Anzahl der Extrakte mit Cytotoxizität<br>(mcg/ml) |              |               |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------|---------------|
|                                     | $CT_{50}:25$                                      | $CT_{50}:50$ | $CT_{50}:100$ |
| <u><i>F. poae</i>:</u>              |                                                   |              |               |
| Diacetoxyscirpenol                  | 7 (23,3%)                                         | 7 (23,3%)    | 9 (30%)       |
| Diacetoxyscirpenol,<br>Neosolaniol  | 2 (6,6%)                                          | 1 (3,3%)     |               |
| Diacetoxyscirpenol,<br>Fusarenon X  | 2 (6,6%)                                          |              |               |
| <u><i>F. acuminatum</i>:</u>        |                                                   |              |               |
| Neosolaniol,<br>T2-Toxin, HT2-Toxin | 1 (3,3%)                                          |              |               |
| <u><i>F. poae</i>:</u>              |                                                   |              |               |
| kein spezielles Toxin               |                                                   |              | 1 (3,3%)      |

### 3.2.5. Resultate des Hühnerembryotests

Mit der beschriebenen Methode wurden die Extrakte von 45 Fusarienstämmen untersucht. Die Ergebnisse bei 250 mcg injizierter Rohextraktmenge wurden mittels  $\chi^2$  (Chi-Quadrat)-Test ausgewertet (SCHMIDT, 1961).

Bei einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\leq 5\%$  ergab sich, daß eine Absterberate von bis zu 7 Eiern nicht auf eine Extraktwirkung zurückzuführen ist. Danach galten als toxisch alle Extrakte mit einer Absterberate von größer als 8 Embryonen. Extrakte von hoher Toxizität lagen dann vor, wenn die Rate 15 bis 20 Embryonen betrug. Die Ergebnisse sind im einzelnen der Tabelle 17 zu entnehmen.

Bei 33 (73,3 %) von 45 Extrakten waren positive Effekte nachweisbar, wobei 15 Extrakte (45,4 %) als toxisch und 18 (54,5 %) als stark toxisch anzusprechen waren. Von den 29 trichothecenhaltigen Extrakten lieferten nur 26 ein positives Resultat. Extrakte von zwei *F. poae*-Stämmen, von denen einer schon im Hauttoxizitäts- und Zellkulturtest als toxisch für das Testobjekt zu ermitteln war, verhielten sich hierbei positiv, ohne daß ein spezieller Toxinnachweis bei der dünnenschichtchromatographischen Untersuchung geführt werden konnte. *F. moniliforme*-Rohextrakte ergaben zu einem Drittel positive Resultate.

Tabelle 17: Bewertung verschiedener Fusarienextrakte  
bezüglich ihrer Toxizität gegenüber  
Hühnerembryonen.

| Spezies<br>analysierte<br>Toxine              | Anzahl der<br>geprüften<br>Extrakte | Toxizitätsgrad |         |               |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------|----------------|---------|---------------|
|                                               |                                     | Ø              | toxisch | stark toxisch |
| <u>F. poae:</u>                               |                                     |                |         |               |
| Diacetoxyscirpenol                            | 23                                  | 3              | 9       | 11            |
| Diacetoxyscirpenol,<br>Neosolaniol            | 3                                   |                |         | 3             |
| Diacetoxyscirpenol,<br>Fusarenon X            | 2                                   |                |         | 2             |
| <u>F. acuminatum:</u>                         |                                     |                |         |               |
| Neosolaniol,<br>T 2-Toxin,<br>HT 2-Toxin      | 1                                   |                |         | 1             |
| <u>F. moniliforme:</u>                        |                                     |                |         |               |
| Extrakte,<br>ohne spezielles<br>Toxin         | 14                                  | 9              | 4       | 1             |
| <u>F. poae:</u>                               |                                     |                |         |               |
| Extrakt 2/78,<br>ohne spezielles<br>Toxin     | 1                                   |                | 1       |               |
| Extrakt 199/77/1,<br>ohne spezielles<br>Toxin | 1                                   |                | 1       |               |

### 3.2.6. Gegenüberstellung der mit den verschiedenen Testverfahren erzielten Befunde

Tabelle 18 faßt alle Einzelergebnisse der angewandten Testverfahren noch einmal zusammen. Die mittels Dünnschichtchromatographie erzielten Ergebnisse befanden sich bei 21 (= 72,4 %) von 29 als trichothecenhaltigen ermittelten Fusarienextrakten in guter Übereinstimmung mit den Resultaten der biologischen Testverfahren, die sogar eine semiquantitative Bewertung gestatteten. Bei Berücksichtigung aller Verfahren waren 12 Rohextrakte als stark toxisch, 5 als mittelgradig und 4 als schwach toxisch einzustufen. Drei Extrakte enthielten vermutlich sehr geringe Toxinsmengen, so daß mittels DC-Verfahren, Haut- und Zellkulturtest nur schwach positive Reaktionen festzustellen waren, bzw. aufgrund der geringen Absterberaten im Hühnerembryotest nur als fraglich beurteilt werden konnten. Lediglich bei 5 Fusarienextrakten in denen DC-analytisch Trichothecene nachweisbar waren, stimmten die Reaktionen in bezug auf den jeweiligen Toxizitätsgrad nicht überein. Zwei *F. poae*-Stämme bildeten Stoffwechselprodukte, die sich wahrscheinlich wegen des Fehlens zusätzlicher Toxinstandards sich nicht im DC-Gramm erfassen ließen. Eine für das Vorhandensein von Trichothecenen sprechende Toxinwirkung konnte bei *F. poae*-Stämmen 2/78 und 199/77/1 durch biologische Testobjekte nachgewiesen werden; bei letzterem Stamm sogar nur durch den Hühnerembryotest. Der Hühnerembryotest lieferte bei fünf *F. moniliforme*-Stämmen überhaupt nur einen Hinweis, daß sie toxische sekundäre Metaboliten bilden. Zum Nachweis von Zearelenon erwiesen sich diese biologischen Verfahren

aufgrund von diesem Metaboliten ausgehenden östrogenen Wirkung, als nicht verwendbar. Die Dünnschichtchromatographie liefert im Gegensatz zu den Trichothecen ein relativ eindeutiges Ergebnis, welches auch quantifizierbar ist, so daß die Notwendigkeit der Durchführung ergänzender biologischer Bestätigungs-Tests nicht in entsprechender Weise gegeben ist.

Tabelle 18: Gegenüberstellung der Ergebnisse der angewandten Verfahren.

| Spezies                                       | Stamm-Nr. | Dünnschicht-<br>chromatographischer<br>Nachweis | Hauttoxizitäts-<br>test | Zellkultur-<br>test<br>CT <sub>50</sub> /Extrakt | Hühnerembryotest<br>abgest.Embr./<br>20 Eier/Extrakt |
|-----------------------------------------------|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| F.moniliforme<br>(Synonym:<br>F.proliferatum) | 205/76/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 225/76/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 226/76/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 233/76/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 235/76/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 235/76/5  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 236/76/5  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 238/76/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 240/76/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 240/76/3  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 242/76/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 242/76/4  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 244/76/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 245/76/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | 9/20                                                 |
|                                               | 13/77     | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 103/77    | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | 8/20                                                 |
|                                               | 103/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 108/77    | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                      |
|                                               | 109/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | 18/20                                                |

Fortsetzung Tabelle 18

| Spezies                                       | Stamm-Nr. | Dünnschicht-<br>chromatographischer<br>Nachweis | Hauttoxizitäts-<br>test | Zellkultur-<br>test<br>CT/50/Extrakt | Hühnerembryotest<br>abgest.Embr./<br>20 Eier/Extrakt |
|-----------------------------------------------|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------|
| F.moniliforme<br>(Synonym:<br>F.proliferatum) | 109/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 150/77/6  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 151/77/5  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 154/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 154/77/3  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 155/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 155/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 155/77/5  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 158/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    | Ø                                                    |
|                                               | 159/77/4  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 163/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 165/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 165/77/3  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 166/77/4  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    | Ø                                                    |
|                                               | 166/77/5  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 167/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 167/77/3  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    |                                                      |
|                                               | 168/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    | Ø                                                    |
|                                               | 169/77/4  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                    | Ø                                                    |

Fortsetzung Tabelle 18

| Spezies                                         | Stamm-Nr. | Dünnschicht-<br>chromatographischer<br>Nachweis | Hauttoxizitäts-<br>test | Zellkultur-<br>test<br>CT <sub>50</sub> /Extrakt | Hühnerembryotest<br>abgest. Embr./<br>20 Eier/Extrakt |
|-------------------------------------------------|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| F. moniliforme<br>(Synonym:<br>F. proliferatum) | 170/77/9  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | Ø                                                     |
|                                                 | 239/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | Ø                                                     |
|                                                 | 239/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | Ø                                                     |
|                                                 | 267/77    | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | 10/20                                                 |
|                                                 | 268/77    | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | Ø                                                     |
|                                                 | 328/77/4  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | Ø                                                     |
|                                                 | 411/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 411/77/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | 13/20                                                 |
|                                                 | 7/78      | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 40/78/2   | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 77/78     | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 84/78/1   | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 84/78/2   | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 90/78     | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 214/76/2  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
| F. tabacinum                                    | 14/78     | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 32/78/2   | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                |                                                       |
|                                                 | 265/75/1  | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|                                                 | 199/77/1  | Ø                                               | Ø                       | Ø                                                | 12/20                                                 |
| F. poae                                         |           |                                                 |                         |                                                  |                                                       |

Fortsetzung Tabelle 18

| Spezies | Stamm-Nr. | Dünnschicht-<br>chromatographischer<br>Nachweis | Hauttoxizitäts-<br>test | Zellkultur-<br>test<br>CT <sub>50</sub> /Extrakt | Hühnerembryotest<br>abgest. Embr./<br>20 Eier/Extrakt |
|---------|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| F. poae | 199/77/3  | Diacetoxyscirpenol                              | ++                      | 50                                               | 8/20                                                  |
|         | 387/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | ø                                                     |
|         | 389/77    | Diacetoxyscirpenol<br>Neosolanol                | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|         | 421/77    | Diacetoxyscirpenol                              | ++                      | 50                                               | 12/20                                                 |
|         | 422/77    | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 424/77/1  | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 19/20                                                 |
|         | 424/77/2  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 425/77/1  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 425/77/2  | Diacetoxyscirpenol                              | ++                      | 50                                               | 16/20                                                 |
|         | 426/77/1  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 426/77/2  | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 18/20                                                 |
|         | 427/77/2  | Diacetoxyscirpenol                              | ++                      | 50                                               | 14/20                                                 |
|         | 430/77/1  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 431/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 50                                               | 20/20                                                 |
|         | 433/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|         | 434/77/1  | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | ø                                                     |
|         | 434/77/2  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 438/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|         | 439/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | ø                                                     |

| Spezies | Stamm-Nr. | Dünnschicht-<br>chromatographischer<br>Nachweis | Hauttoxizitäts-<br>test | Zellkultur-<br>test<br>CT <sub>50</sub> /Extrakt | Hühnerembryotest<br>abgest. Embr./<br>20 Eier/Extrakt |
|---------|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| F. poae | 4441/77/2 | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | 8/20                                                  |
|         | 442/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | 8/20                                                  |
|         | 443/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | 9/20                                                  |
|         | 449/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 100                                              | 9/20                                                  |
|         | 450/77    | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|         | 2/78      | ø                                               | +                       | 100                                              | 8/20                                                  |
|         | 3/78      | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 50                                               | 20/20                                                 |
|         |           | Neosolanol                                      |                         |                                                  |                                                       |
|         | 4/78      | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 100                                              | 20/20                                                 |
|         | 9/78/2    | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|         |           | Fusarenon X                                     |                         |                                                  |                                                       |
|         | 10/78     | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 17/20                                                 |
|         |           | Fusarenon X                                     |                         |                                                  |                                                       |
|         | 30/78     | Diacetoxyscirpenol                              | ++                      | 50                                               | 15/20                                                 |
|         | 32/78/1   | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 20/20                                                 |
|         |           | Neosolanol                                      |                         |                                                  |                                                       |
|         | 60/78     | Diacetoxyscirpenol                              | +++                     | 25                                               | 18/20                                                 |
|         | 86/78/1   | Diacetoxyscirpenol                              | +                       | 100                                              | 8/20                                                  |
|         | 91/78     | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                       |
|         | 98/78/1   | Diacetoxyscirpenol                              | ++                      | 50                                               | 8/20                                                  |

Fortsetzung Tabelle 18

| Spezies       | Stamm-Nr. | Dünnschicht-<br>chromatographischer<br>Nachweis | Hauttoxizitäts-<br>test | Zellkultur-<br>test<br>CT <sub>50</sub> /Extrakt | Hühnerembryotest<br>abgest.Embr./<br>20 Eier/Extrakt |
|---------------|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| F.culmorum    | 346/75/1  | Zearalenon                                      | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 452/75/1  | Zearalenon                                      | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 419/77    | Zearalenon                                      | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 435/77    | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 452/77    | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 48/78     | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 97/78/1   | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 432/77/1  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
| F.avenaceum   | 440/77/1  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
| F.graminearum | 64/75/3   | Zearalenon                                      | ø                       | ø                                                |                                                      |
|               | 49/78     | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
| F.acuminatum  | 9/78/1    | Neosolaniol<br>HT2-Toxin<br>T2-Toxin            | +++                     | 25                                               | 20/20                                                |
|               |           |                                                 |                         |                                                  |                                                      |
| F.oxysporum   | 21/78     | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
| F.tricinctum  | 427/77/5  | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |
| F.sp.         | 396/77    | ø                                               | ø                       | ø                                                |                                                      |

#### 4. DISKUSSION

Ein Befall der Futtermittelpflanzen durch Fusarien wird in Ländern außerhalb Europas, so vor allem in Nordamerika, in erster Linie beim Mais festgestellt, wobei hauptsächlich die Art *F. moniliforme* dominiert und erst in zweiter Linie *F. roseum*, *F. oxysporum* und *F. graminearum* daran beteiligt sind (NICHOLSON et al., 1976; KOMMEDAHL et al., 1977; MARASAS et al., 1978). Ähnliche Verhältnisse sind in unseren Breiten nur teilweise anzutreffen. Bei der vorliegenden Untersuchung waren die Mehrzahl der aus Maisproben isolierten Stämme auch der Art *F. moniliforme* (91 %) zu ordnen, da hierzulande häufig US-Mais zur Herstellung von Fertigfuttermitteln Verwendung findet. Erstaunlich ist dabei, daß auch im Mischfutter diese Spezies besonders stark vertreten war (75 %), obwohl diese Futtermittel häufig keimreduzierenden Maßnahmen unterworfen werden (GEDEK, 1977). Es hat den Anschein, als ob dieser Spezies nicht nur als Feldpilz, sondern auch als Lagerungspilz Bedeutung zukommt.

Von den Cerealien europäischer Herkunft ist häufiger das Ährengetreide mit Fusarien befallen: In Hafer- und Weizenproben war als zweithäufigste Art *F. poae* (69 %) zu identifizieren; der relativ hohe Besatz kann unter Umständen auf die spezielle Morphologie dieser Getreidearten zurückgeführt werden. Nach dem Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen scheinen andere Arten wie *F. culmorum*, *F. tabacinum*, *F. avenaceum* und *F. graminearum* dagegen nur selten vorzukommen. Bei Berücksichtigung der mykotoxikologischen Untersuchungsbefunde kann der Schluß gezogen werden, daß Fusarien heute nicht nur weit verbreitet vorkommen, sondern sich darunter zu einem hohen Prozentsatz

Bildner potenter Toxine befinden. 30 % aller isolierten Stämme erwiesen sich als Bildner eines oder mehrerer Mykotoxine, zugleich gehörte die Mehrzahl toxinproduzierender Stämme der am zweithäufigsten gefundenen Spezies *F. poae* an. Diese Spezies synthetisierte in erster Linie Diacetoxyscirpenol (75,6 %), ein Trichothecen welches bei Tieren Erbrechen, Futterverweigerung, Leistungsdepression und erhöhte Krankheitsbereitschaft hervorrufen kann und somit wirtschaftlichen Schaden anrichten kann (KOTSONIS et al., 1975; PALYUSIK, 1977).

Das Zearalenon als vor allem für reproduktionsbiologische Probleme in der Schweinehaltung verantwortlich zeichnender Metabolit der Fusarien, sollte eigentlich weltweit gleichermaßen vorkommen (MIROCHA et al., 1967; MIROCHA et al., 1974 a; CHANG et al., 1979; LEW et al., 1979). Die häufig als Zearalenonbildner beschriebenen Arten wie *F. roseum*, *F. graminearum* oder *F. culmorum* hatten aber im vorliegenden Untersuchungsmaterial in nur geringem Maße vorgelegen, so daß Zearalenon mittels beschriebener DC-Methode als Stoffwechselprodukt nur bei vier Stämmen nachgewiesen werden konnte.

Bei der effektiven Nachweisbarkeit der einzelnen Toxine werden oft die Unzulänglichkeiten der Mykotoxinanalytik sichtbar. Betrachtet man zum Vergleich die Ergebnisse einer kürzlich erschienenen Arbeit von BAUER et al. (1980), in der vergleichbares Probenmaterial verwendet wurde, scheint es vordergründig Unterschiede zwischen dem indirekten Toxinnachweis über Kulturanzüchtung und dem direkten Nachweis in Futtermitteln zu geben. So wurde einerseits mehr Zearalenon nachgewiesen, andererseits konnte kein Diacetoxyscirpenol festgestellt werden. Die Ursache kann nicht allein in unterschiedlichen Kulturbedingungen gesehen werden, die zu

veränderten Stoffwechselaktivitäten der Schimmelpilze geführt haben könnten; hier werden wiederum die Grenzen der Trichothecenanalytik deutlich. Während mittels DC-Verfahren Zearalenon schon in Konzentrationen von 100 ppb nachgewiesen werden können, liegt die Nachweisgrenze für T 2-Toxin und Diacetoxyscirpenol erst im Bereich von ppm. Derartige Konzentrationen scheinen von vielen Stämmen in der Kulturanreicherung gebildet werden zu können, liegen aber möglicherweise in Futtermitteln darunter. Durch fehlende Eigenfluoreszenz der Trichothecene unter dem UV-Licht und durch Störsubstanzen ist der Nachweis in Futtermitteln mit physikalisch-chemischen Nachweismethoden zusätzlich erschwert (GEDEK, 1980). Eine ähnliche begrenzte Aussagekraft haben DC-Verfahren möglicherweise auch bei der Moniliformin-Analytik. Trotz der Verfügbarkeit spezieller Methoden (COLE et al., 1973 und KRIEK et al., 1977) ließ sich vermutetes Moniliformin nicht erfassen. KÖHLER et al. (1978) wiesen bereits auf die wahrscheinlich ungenügende Empfindlichkeit des DC-Verfahrens für den Moniliformin-Nachweis hin.

Bei der Anwendung der physikalisch-chemischen Tests bestätigte sich die nicht befriedigende Aussage dieser Verfahren und unterstreicht die Notwendigkeit der Anwendung von Bestätigungstests zur Absicherung eines Testergebnisses. Es zeigte sich, daß von den zur Verfügung stehenden biologischen Tests, der Hauttoxizitätstest sich gegenüber Trichothecen durch eine besonders hohe Empfindlichkeit auszeichnet, die je nach Toxin bei Meerschweinchenhaut zwischen 0,2 mcg und 10 mcg pro Spot liegt (WEI et al., 1972). Eine annähernd gleich hohe Empfindlichkeit ist gegeben, beim Zellkulturtest (0,5 mcg) sowie auch beim Hühnerembryotest (0,5 mcg - 5,0 mcg) (GEDEK, 1972).

Demzufolge wurde in der vorliegenden Arbeit die Toxizität zweier *F. poae*-Stämme (2/78 und 199/77/1) erst durch die Prüfung mit biologischen Testsystemen erkannt. Während auch hier *Trichothecene* als Ursache für das positive Testergebnis wie bei den anderen *F. poae*-Stämmen anzunehmen ist, besteht bei den fünf im Hühnerembryotest positiven *F. moniliforme*-Stämmen, wegen deren angeblichen Befähigung zur Moniliiforminbildung, diesbezüglich völlige Unklarheit, zumal die anderen Tests bei diesen Stämmen stets ein negatives Resultat erbrachten.

Neben dem Bemühen um eine Verbesserung der Nachweisverfahren von Fusarientoxinen in der Nahrung von Mensch und Tier, sollte auch eine intensive Suche nach speziellen Bekämpfungsverfahren betrieben werden. Da Fusarientoxine in der Regel relativ niedermolekulare Verbindungen darstellen, kommt es bei der Aufnahme in den menschlichen oder tierischen Organismus nicht zu einer entsprechenden Antikörperbildung, so daß eine lebenslange Schutzlosigkeit von Mensch und Tier gegenüber diesen Toxinen vorhanden ist (GEDEK, 1980). Ebenso gestaltet sich die Herstellung von Impfstoffen und Antidoten als äußerst schwierig, so daß bislang die Therapie im Falle einer Intoxikation bestenfalls nur symptomatisch erfolgen kann (PALYUSIK, 1977; GEDEK, 1980). Somit liegt das Hauptgewicht der Bekämpfung von Fusariotoxikosen auf der Prophylaxe. Grundsätzlich sollten eigentlich mit Fusarientoxinen kontaminierte Lebens- und Futtermittel beseitigt werden, da nach den gesetzlichen Bestimmungen gesundheitsschädliche Substanzen darin nicht enthalten sein dürfen. Vorläufig fehlt es aber noch an geeigneten Verfahren für die routinemäßige Anwendung.

Bei verdächtigen Futtermitteln kann aus wirtschaftlichen Gründen ein Verschneiden (mindestens 1:10) mit anderem vermutlich toxinfreien Futter empfohlen werden. Junge, trächtige oder laktierende Tiere sollten in keinem Fall mit Fusarien hoch kontaminiertes Futter erhalten.

Bei der Gewinnung und Lagerung von Futter sollten neben hygienischen Maßnahmen, für ausreichende Trocknung der Rohstoffe und kühle, trockene und luftige Lagerplätze gesorgt werden. Durch Einsatz organischer Säuren wie Ameisen-, Essig- und Propionsäure kann dem Verderb und damit der Toxinbildung entgegen gewirkt werden (GEDEK, 1980). Weiterhin bestehen durch Anbau fusarienresistenter Pflanzensorten, optimale Versorgung des Getreides mit essentiellen Nährstoffen und letztendlich durch gezielten Einsatz von umweltfreundlichen Fungiziden Möglichkeiten, dem Fusarienproblem (BOCKMANN et al., 1975; LEW et al., 1979; MÜLLER, 1978) Herr zu werden. Denn was nützt die Verfeinerung analytischer Methoden, wenn die potentielle Gefährdung durch Fusariantoxine zu erkranken, bei Mensch und Tier fortbesteht.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

107 Pilzstämmen der Gattung *Fusarium* aus 89 Futtermittelproben wurden zunächst auf ihre Artzugehörigkeit untersucht.

Die Differenzierung ergab als häufigste Arten in Mais und Mischfutter *F. moniliforme* (52 Stämme) und bei Hafer und Weizen *F. poae* (37 Stämme). Unabhängig von der Art des Futtermittels waren dagegen weniger oft *F. culmorum* (7 Stämme), *F. tabacinum* (3 Stämme), *F. avenaceum* und *F. graminearum* (je 2 Stämme) nachweisbar. Jeweils nur ein Stamm war *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. tricinctum* und einer nicht näher zu identifizierenden *Fusarienart* (*F. sp.*) zu zuordnen.

Sämtliche Stämme wurden in YES-Medium angereichert und mittels Dünnschichtchromatographie auf die Bildung der wichtigsten Trichothecene, Zearalenon und Moniliformin untersucht.

Bei der Anwendung der physikalisch-chemischen Methode waren 33 Stämme als Bildner eines oder mehrerer Toxine zu identifizieren. In den Extrakten konnten Diacetoxyscirpenol 28 mal, Neosolaniol 4 mal, Fusarenon X 2 mal, T 2-Toxin und HT 2-Toxin jeweils einmal und Zearalenon 4 mal nachgewiesen werden.

Die Mehrzahl der trichothecenbildenden Stämme gehörte der Art *F. poae* an. Nur ein Stamm von *F. acuminatum* bildete gleichzeitig Neosolaniol, T 2-Toxin und HT 2-Toxin. Zearalenon war in Extrakten der Art *F. culmorum* (3 Stämme) und *F. graminearum* (1 Stamm) feststellbar. Moniliformin konnte in keinem Extrakt nachgewiesen werden.

Die Untersuchungsergebnisse der Dünnschichtchromatographie konnten bei Anwendung der biologischen Testmethoden - Hauttoxizitätstest, Zellkulturtest und Hühnerembryotest - bestätigt werden.

Zwei *F. poae*-Stämme konnten überhaupt erst durch biologische Verfahren als Toxinbildner erkannt werden. Fünf Extrakte von *F. moniliforme*-Stämmen erwiesen sich im Hühnerembryotest als toxisch für das Testobjekt, ohne daß ein spezielles Toxin physikalisch-chemisch ermittelt werden konnte.

30,8 % der untersuchten Stämme bildeten eines oder mehrere der bekannten Mykotoxine. Der relativ hohe Anteil zur Bildung potenter Gifte befähigter Isolate aus Futtermitteln, unterstreicht die Bedeutung dieser Toxinbildner. Die Ergebnisse der DC-Verfahren befanden sich weitgehend in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der durchgeführten biologischen Tests. Da die biologischen Tests sich außerdem auch durch eine höhere Empfindlichkeit auszeichnen, wurden letztlich mit diesen Verfahren verhältnismäßig mehr Stämme als Toxinbildner erkannt. Dabei mußte jedoch in Kauf genommen werden, daß eine Identifizierung des Toxins bzw. der Toxine damit nicht vorgenommen werden konnte. Es ergaben sich keine Anhaltspunkte dafür, daß andere als die bereits beschriebenen Fusarientoxine für die positiven Testresultate verantwortlich zeichneten.

## SUMMARY

107 fungus strains of the genus *Fusarium* were isolated from 89 feedstuff samples; the species of these strains were identified.

*F. moniliforme* (52 strains) was the most frequently isolated species in corn and mixedfeed, while in oats and wheat, *F. poae* (37 strains) was dominant. Independent of the kind of feed examined, *F. culmorum* (7 strains), *F. tabacinum* (3 strains), *F. avenaceum* (2 strains), and *F. graminearum* (2 strains) were detected less often. One strain each was identified as *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. tricinctum* and one strain was not identifiable (*F. sp.*).

All strains were cultivated on YES-medium and the extracts were investigated by thin layer chromatography for the production of zearalenone, moniliformin, and the most important types of trichothecenes.

Using this physico-chemical method, 33 strains were recognized as producers of one or more of these toxins. Diacetoxyscirpenol (28 times), neosolaniol (4 times), fusarenon X (2 times), T-2 toxin (once), HT-2 toxin (once), and zearalenone (4 times) could be detected. Most of the trichothecenes producing strains belonged to the species *F. poae*. Only one strain of *F. acuminatum* simultaneously produced neosolaniol, T-2 toxin, and HT-2 toxin. Zearalenone was detectable in extracts of the species *F. culmorum* (3 strains) and *F. graminearum* (1 strain). Moniliformin could not be found in any extract.

The results of the thin layer chromatography were confirmed by biological methods: skin irritation test, cell culture test, and chicken embryo test. Two *F. poae* strains were recognized as toxin producers only by the biological methods. Five extracts of *F. moniliforme* strains showed toxicity by means of the chicken embryo test, while a special toxin could not be detected with the physico-chemical method.

30,8 % of the investigated strains produced one or more of the mycotoxins. The comparatively large share of strong toxin producing isolates from feedstuff indicates the importance of these toxin producers. The results of the thin layer chromatography method showed a great conformity with the biological tests used. Additionally, since the biological tests showed a higher sensibility, comparatively more toxin producing strains could be recognized. Therefore it must be taken into consideration that special toxins are not identifiable. No evidence exists that *Fusarium* toxins other than those already described are responsible for the positive test results discussed here.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS <sup>•</sup>

- ARX, J. A. von, 1976:  
Pilzkunde  
3. Auflage, J. Cramer, Vaduz
- BADIALI, L., ABOU-YOUSSEF, M. H., RADWAN, A. J.,  
HAMDY, F. M., HILDEBRANDT, P. K., 1968:  
Moldy corn poisoning as the major cause of  
an encephalomalacia syndrome in Egyptian  
Equidae.  
Am. J. Vet. Res., 29, 2029 - 2035.
- BALZER, J., BOGDANIĆ, C., MUŽIĆ, S., 1977:  
Natural contamination of corn (zea mais)  
with mycotoxins in Yugoslavia.  
Annls.Nutr. Aliment., 31, 425 - 430.
- BAMBURG, J. R., STRONG, F. M., 1971:  
12, 13-epoxy-trichothecenes  
In: KADIS, S., CIEGLER, A., AIEL, S. J.,  
Microbial toxins, Vol. III, Academic Press,  
New York, London, 207 - 292.
- BAUER, J., GEDEK, B., 1978:  
Mykotoxikosen beim Schwein.  
Der prakt. Tierarzt, 10, 780 - 785.
- BAUER, J., WERMTER, R., GEDEK, B., 1980:  
Zur Kontamination von Futtermitteln mit  
toxinbildenden Fusarienstämmen und  
deren Toxinen.  
Wien. tierärztl. Mschr., 67, 282 - 288.

---

<sup>•</sup> Abkürzungen der Zeitschriften aus:  
World list of scientific periodicals,  
IV.ed., Vol. I - III,  
Butterworths, London, 1963.

- BOCKMANN, H., MEJER, H., WACHHOLZ, G., 1975:  
Untersuchungen über die Anfälligkeit verschiedener Winter- und Sommerweizensorten gegen *Septoria nodorum* Berk. und *Fusarium culmorum* Link.  
Z. Pflzücht., 74, 39 - 47.
- BOOTH, C., 1976:  
The Genus *Fusarium*.  
Commonwealth Mycological Institute Kew,  
Surrey, England.
- BOTTALICO, A., 1979:  
Occurrence of Zearalenone in Italy.  
Mycopathologia, 67, 119.
- BOYD, P. A., WITTLIFF, J. L., 1973:  
Mechanism of *Fusarium* mycotoxin action in mammary gland.  
J. Toxic. Envir. Health, 4, 1 - 8.
- BU`LOCK, J. D., 1970:  
Biosynthese von Naturstoffen.  
B.L.V. Verlagsgesellschaft mbH, München.
- CALDWELL, R. W., TUIITE, J., 1970:  
Zearalenone production in field corn in Indiana.  
Phytopathology, 60, 1696 - 1697.
- CHANG, K., KURTZ, H. J., MIROCHA, C. J., 1979:  
Effects of the mycotoxin Zearalenone on swine reproduction.  
Am. J. Vet. Res., 10, 1260 - 1267.



- ELLISON, R. A., KOTSONIS, F. N., 1973:  
T-2 toxin as an emetic factor in  
moldy corn.  
Appl. Microbiol., 26, 540 - 543.
- EPPLEY, R. M., STOLOFF, L., TRUCKSESS, M. W.,  
CHUNG, C. W., 1974:  
Survey of corn for Fusarium toxins.  
J. Ass. Off. Analyt. Chem., 57, 632 - 635.
- FLANNIGAN, B., 1970:  
Comparison of seed-borne mycofloras of  
barley, oats, and wheat.  
Trans. Br. Mycol. Soc., 55, 267 - 276.
- FORSYTH, D. M., YOSHIKAWA, T., MOROOKA, N.,  
TUIE, J., 1977:  
Emetic and refusal activity of  
Deoxynivalenol to swine.  
Appl. Envir. Microbiol., 34, 547 - 552.
- FUNNEL, H. S., 1979:  
Mycotoxins in animal feedstuffs in  
Ontario 1972 to 1977.  
Can. J. Comp. Med., 43, 243.
- GAMS, W., AA, H. A. van der, PLAATS-NITERINK van der,  
SAMSON, R. A., STALPERS, J. A., 1975:  
CBS Course of mycology.  
Centraal Bureau voor Schimmelcultures,  
Baarn, the Netherlands.
- GEDEK, B., 1972:  
Biologischer Nachweis von Mykotoxinen.  
Zentbl.Vet.Med. B, 19, 15 - 32.

GEDEK, B., 1977:

Schimmelpilze und Hefen in Cerealien  
und Futtermitteln. Schweizerische  
Gesellschaft für Lebensmittelhygiene.  
Separatdruck Chemische Rundschau, Heft  
6, 60 - 68.

GEDEK, B., 1980:

Kompendium der medizinischen Mykologie.  
Paul Parey Verlag, Berlin und  
Hamburg.

GEDEK, B., HÜTTNER, B., KAHLAU, D. J., KÖHLER, H.,  
VIELITZ, E., 1973:

Rachitis bei Mastgeflügel durch Kontami-  
nation des Futters mit *Fusarium monili-*  
*forme* Sheldon.

1. Mitteilung: Feldbeobachtungen,  
Reproduktion des Krankheitsbildes und  
Behandlungsversuche.

Zentbl.Vet.Med. B, 25, 29 - 44.

GERLACH, W., 1970:

Suggestions for an acceptable modern  
*Fusarium* system.

Annls.Acad. Sci. Fenn. Ser. A IV Biologica,  
168, 37 - 49.

GREENMAN, D. L., MEHTA, R. G., WITTLIFF, J. L., 1979:

Nuclear interaction of *Fusarium* myco-  
toxins with estradiol binding sites in  
the mouse uterus.

J. Toxic. Envir. Health, 5, 593 - 598.

- GROSS, V. J., ROBB, J., 1975:  
Zearalenone production in barley.  
Annls. Appl. Biol., 80, 211 - 216.
- GROVE, M. D., YATES, S. G., TALLENT, W. H., ELLIS, J. J.,  
WOLFF, I. A., KOSURI, N. R., NICHOLS, R. E.,  
1970:  
Mycotoxins produced by *Fusarium tricinctum*  
as possible causes of cattle disease.  
J. Agric. Fd. Chem., 18, 734 - 736.
- HESSELTINE, C. W., ROGERS, R. F., SHOTWELL, O. L., 1978:  
Fungi, especially *Gibberella zeae*, and  
Zearalenone occurrence in wheat.  
Mycologia, 70, 14.
- HIDY, P. H., BALDWIN, R. S., GREASHAM, R. L., KEITH, C. L.,  
MCMULLEN, J. R., 1977:  
Zearalenone and some derivatives: Production  
and biological activities.  
In: PERLMAN, D., Adv. Appl. Microbiol.,  
Academic Press, New York, 22, 59 - 82.
- HOBSON, W., BALLEY, J., FULLER, G. B., 1977:  
Hormone effects of Zearalenone in nonhuman  
primates.  
J. Toxic. Envir. Health, 3, 43 - 57.
- HOKER, A. L., WHITE, D. G., 1976:  
Prevalence of corn stalk rot fungi in Illinois.  
Plant Dis. Reptr., 60, 1032.
- HSU, J. C., SMALLEY, E. B., STRONG, F. M., RIBELIN, W. E.,  
1972:  
Identification of T-2 toxin in moldy corn  
associated with a lethal toxicosis in  
dairy cattle.  
Appl. Microbiol., 24, 684 - 690.

- ISHII, K., SAWANO, M., UENO, Y., HIROSHI, T., 1974:  
Distribution of Zearalenone-producing  
Fusarium species in Japan.  
Appl. Microbiol., 27, 625 - 628.
- JEMMALI, M., 1973:  
Présence d'un factor oestrogénique  
d'origine fongique la Zearalenone ou F-2,  
comme contaminant naturel, dans du maïs.  
Annls. Microbiol. (Inst. Pasteur),  
124 B, 109 - 114.
- JEMMALI, M., UENO, Y., ISHII, K., FRAYSSINET, C.,  
ETIENNE, M., 1978:  
Natural occurrence of Trichothecenes  
(Nivalenol, Deoxynivalenol, T2) and  
Zearalenone in corn.  
Separatum Experientia, 34, 1333.
- JOFFE, A. Z., 1971:  
Alimentary toxic aleukia  
In: KADIS, S., CIEGLER, A., AIJL, S. J.,  
Microbial toxins, Vol. VII, Academic Press,  
New York and London, 139 - 189.
- JOFFE, A. Z., 1974 a:  
A modern system of Fusarium taxonomy.  
Mycopath. Mycol. Appl., 53, 201 - 228.
- JOFFE, A. Z., 1974 b:  
Growth and toxigenicity of Fusaria of the  
Sporotrichiella section as related to envi-  
ronmental factors and culture substrates.  
Mycopath. Mycol. Appl., 54, 35 - 46.

JOFFE, A. Z., 1975:

Toxin production by cereal fungi causing  
toxic alimentary aleukia in man.

In: WOGAN, G. N., Mycotoxins in foodstuffs,  
M. I. T. press.

JOFFE, A. Z., PALTÍ, J., 1975:

Taxonomic study of Fusaria of the Sporotrichiella section used in recent toxicological work.

Appl. Microbiol., 29, 575 - 579.

KÖHLER, H., BÜTTNER, B., VIELITZ, E., KAHLAU, D. J.,  
GEDEK, B., 1978:

Rachitis bei Mastgeflügel durch Kontamination  
des Futters mit Fusarium moniliforme Sheldon.  
2. Mitteilung: Histologische und mykotoxi-  
kologische Untersuchungen.

Zentbl.Vet.Med. B, 25, 89 - 109.

KOMMEDAHL, T., WINDELS, C. E., 1977:

Fusarium stalk rot and common smut in corn-  
fields of Southern Minnesota in 1976.

Plant Dis. Reptr., 61, 259 - 261.

KOSURI, N. R., GROVE, M. D., YATES, S. G., TALLENT, W. H.,  
ELLIS, J. J., WOLF, J. A., NICHOLS, R. E.,  
1970:

Response of Fusarium tricinctum isolated  
from corn and fescue.

J. Am. Vet. Med. Ass., 157, 938 - 940.

KOTSONIS, F. N., ELLISON, R. A., 1975:

Assay and relationship of HT2-toxin and  
T-2 toxin formation in liquid culture.

Appl. Microbiol., 30, 33 - 37.

- KRIEK, N. P. J., MARASAS, W. F. O., STEYN, P. S.,  
RENSBURG, S. J. van, STEYN, M., 1977:  
Toxicity of a Moniliformin-producing  
strain of *Fusarium moniliforme* var.  
*subglutinans* isolated from maize.  
*Fd.Cosmet. Toxic.*, 15, 579 - 587.
- KURTZ, H. J., NAIRN, M. E., NELSON, G. H.,  
CHRISTENSEN, C. M., MIROCHA, C. J., 1969:  
Histologic changes in the genitals tracts of  
swine fed estrogenic mycotoxin.  
*Am. J. Vet. Res.*, 30, 551 - 556.
- LAFARGE - FRAYSSINET, C., LESPINATS, G., LAFONT, P.,  
LOISILLIER, F., MOUSSET, S., ROSENSTEIN, Y.,  
FRAYSSINET, C., 1979:  
Immunosuppressive effects of *Fusarium* extracts  
and *Trichothecenes*: Blastogenic response  
of murine splenic and thymic cells to  
mitogens (40439).  
*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 160, 302 - 311.
- LANSDEN, J. A., CLARKSON, R. J., NEELY, W. C.,  
COLE, R. J., KIRKSEY, J. W., 1974:  
Spectroanalytical parameters of fungal  
metabolites. IV. Moniliformin.  
*J. Ass. Off. Analyt. Chem.*, 57, 1392 - 1396.
- LATCH, G. C. M., MCKENZIE, E. M. C., 1977:  
Fungal flora of ryegrass swards in Wales.  
*Trans. Br. Mycol. Soc.*, 68, 181 - 184.
- LEONOV, A. N., 1977:  
Alimentary Toxic Aleukia.  
In: RODRICKS, J. V., HESSELTINE, C. W.,  
MEHLMANN, M. A., *Mycotoxins in human and  
animal health*. Pathotox Publishers, Inc.,  
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 323 - 328.

- LEW, H., MÜLLNER, E., HAGER, R., GREGOR, M., 1979:  
Fütterungsprobleme bei Mastschweinen  
verursacht durch fusarientoxinhaltigen Mais.  
Die Bodenkultur, 30, 309 - 316.
- LILLEHOJ, E. B., 1973:  
Feed sources and conditions conducive  
to production of Aflatoxin, Ochratoxin,  
Fusarium toxins, and Zearalenone.  
J. Am. Vet. med. Ass., 163, 1281 - 1283.
- LINK, 1809:  
Mag. Ges. naturf. Freunde, Berlin,  
zit. nach: BOOTH, C., 1971:  
The Genus Fusarium.
- LOVELACE, C. E. A., NYATHI, C. B., 1977:  
Estimation of the fungal toxins, Zearalenone,  
and Aflatoxin, contaminating opaque beer  
in Zambia.  
J. Sci. Fd. Agric., 28, 288 - 292.
- LUTSKY, J., MOR, N., YAGEN, B., JOFFE, A. Z., 1978:  
The role of T-2 toxin in experimental  
alimentary toxic aleukia: A toxicity  
study in cats.  
Toxic. Appl. Pharmac., 43, 111 - 124.
- MALALASEKERA, R. A. P., SANDERSON, F. R.,  
COLHOUN, J., 1973:  
Fusarium diseases of cereals.  
IX. Penetration and invasions of wheat  
seedlings by Fusarium culmorum and F. nivale.  
Trans. Br. Mycol. Soc., 60, 453 - 462.

- MANABE, M., TAUCHMANN, F., LEISTNER, L., 1974:  
Screening-Methode zum Nachweis von Mykotoxinen.  
Jahresbericht Bundesanst. Fleischforsch.,  
Kulmbach.
- MARASAS, W. F. O., BAMBURG, J. R., SMALLEY, E. B.,  
STRONG, F. M., RAGLAND, W. L., DEGURSE, P. E.,  
1969:  
Toxic effects on trouts, rats, and mice  
of T-2 toxin produced by the fungus  
*Fusarium tricinctum* (Bd) Snyder and  
Hansen.  
Toxic. Appl. Pharmac., 15, 471 - 482.
- MARASAS, W. F. O., KELLERMAN, T. S., PIENAAR, J. G.,  
NAUDE, T. W., 1976:  
Leukoencephalomalacia: A mycotoxicosis  
of Equidae caused by *Fusarium moniliforme*  
Sheldon.  
Onderstepoort J. Vet. Res., 43, 113 - 122.
- MARASAS, W. F. O., KRIEK, N. P. J., RENSBURG, S. J. van,  
STEYN, M., SCHALKWYK, H. C. van, 1977:  
Occurrence of Zearalenone and Deoxynivalenol,  
mycotoxins produced by *Fusarium*  
*graminearum* Schwabe, in maize in Southern  
Africa.  
S. Afr. J. Sci., 73, 346 - 349.
- MARASAS, W. F. O., KRIEK, N. P. J., STEYN, M.,  
RENSBURG, S. J. van, SCHALKWYK, J. J. van,  
1978:  
Mycotoxicological investigations on  
zambian maize.  
Fd.Cosmet. Toxic., 16, 39 - 45.

- MARASAS, W. F. O., LEISTNER, L., HOFMANN, G., 1979:  
Occurrence of toxigenic strains of *Fusarium*  
in maize and barley in Germany.  
*Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*,  
7, 289 - 305.
- MARASAS, W. F. O., SMALLEY, E. B., DEGURSE, P. E.,  
BAMBURG, J. R., NICHOLS, R. E., 1967:  
Acute toxicity to rainbow trout (*Salmo*  
*gairdnerii*) of a metabolite produced by  
the fungus *Fusarium tricinctum*.  
*Nature*, 214, 817 - 818.
- MARTIN, P. M. D., KEEN, P., 1978:  
The occurrence of Zearalenone in raw and  
fermented products from Swaziland and Lesotho.  
*Sabouraudia*, 16, 15 - 22.
- MATTHEW, J. G., PATTERSON, D. S. P., ROBERTS, B. A.,  
SHREEVE, B. J., 1977:  
T-2 toxin and haemorrhagic syndromes of  
cattle.  
*Vet. Rec.*, 101, 391.
- MAYR, A., BACHMANN, P. A., BIBRACK, B., WITTMANN, G.,  
1974:  
*Virologische Arbeitsmethoden*, Bd. 1:  
Zellkulturen, bebrütete Hühnereier, Ver-  
suchstiere.  
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- MCGINNIS, M. R., PADHYME, A. A., AJELLO, L., 1974:  
Storage of stock cultures of filamentous  
fungi, yeasts and some aerobic Actinomycetes  
in sterile distilled water.  
*Appl. Microbiol.*, 28, 218 - 222.

- MCLAUGHLIN, C. S., VAUGHAN, M. H., CAMPBELL, I. M.,  
WEI, C. M., STAFFORD, M. E., HANSEN, B. S.,  
1977:  
Inhibition of protein synthesis by Tricho-  
thecenes.  
In: RODRICKS, J. V., HESSELTINE, C. W.,  
MEHLMANN, M. A., Mycotoxins in human and  
animal health. Pathotox Publishers, Inc.,  
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 263 - 273.
- MCNUTT, S. H., PURWIN, P., MURRAY, C., 1928:  
Vulvovaginitis in swine - preliminary report.  
J. Am. Vet. Med. Ass., 73, 484 - 492.
- MILLER, J. K., HACKING, A., HARRISON, J.,  
GROSS, V. J., 1973:  
Stillbirths, neonatal mortality and small  
litters in pigs associated with the inges-  
tion of Fusarium toxin by pregnant sows.  
Vet. Rec., 93, 555 - 559.
- MIROCHA, C. J., CHRISTENSEN, C. M., 1974 a:  
Oestrogenic mycotoxins synthesized by  
Fusarium.  
In: PURCHASE, I. F. H., Mycotoxins,  
Elsevier Scientific Publishing Co.,  
Amsterdam, Oxford, New York, 129 - 148.
- MIROCHA, C. J., CHRISTENSEN, C. M., 1974 b:  
Fungus metabolites toxic to animals.  
Annls.Rev. Phytopath., 12, 303 - 330.
- MIROCHA, C. J., CHRISTENSEN, C. M., NELSON, G. H.,  
1967:  
Estrogenic metabolite produced by Fusarium  
graminearum in stored corn.  
Appl. Microbiol., 15, 497 - 503.

- MIROCHA, C. J., CHRISTENSEN, C. M., NELSON, G. H.,  
1971:  
F-2 ( zearalenone) estrogenic mycotoxin from  
Fusarium.  
In: RADIS, S., CIEGLER, A., AIJL, J.,  
Microbial toxins, Vol. VII, Academic Press,  
New York and London, 107 - 138.
- MIROCHA, C. J., PATHRE, S. V., CHRISTENSEN, C. M.,  
1977:  
Chemistry of Fusarium and Stachybotrys  
mycotoxins.  
In: WYLLIE, T. D., MOREHOUSE, L. G., Vol. I,  
Mycotoxic fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses.  
Marcel Dekker Inc., New York - Basel,  
365 - 420.
- MIROCHA, C. J., PATHRE, S. V., SCHAUERHAMER, B.,  
CHRISTENSEN, C. M., 1976:  
Natural occurrence of Fusarium toxins in  
feedstuff.  
Appl. Envir. Microbiol., 32, 553 - 556.
- MIROCHA, C. J., SCHAUERHAMER, B., CHRISTENSEN, C. M.,  
KOMMEDAHL, T., 1979 a:  
Zearalenone, Deoxynivalenol, and T-2 Toxin  
associated with stalk rot in corn.  
Appl. Envir. Microbiol., 38, 557 - 558.
- MIROCHA, C. J., SCHAUERHAMER, B., CHRISTENSEN, C. M.,  
NIKU-PAAVOLA, M. L., NUMMI, M., 1979 b:  
Incidence of Zearalenol (Fusarium mycotoxin)  
in animal feed.  
Appl. Envir. Microbiol., 38, 749 - 750.

- MOROOKA, N., TATSUNO, T., 1970:  
Toxic substances (Fusarenon and Nivalenol)  
produced by *Fusarium nivale*.  
Proc. 1st Japan - U.S. Conf. in toxic micro-  
organisms. (HERZBERG, M., ed.) U.S. Dept.  
Int., 114 - 119.
- MÜLLER, E., 1974:  
Was sind Schimmelpilze und Hefen?  
*Alimenta*, 13, 50 - 53.
- MÜLLER, H. M., 1978:  
Zearalenon - ein Östrogen wirksames Mykotoxin.  
*Übers. Tiernähr.*, 6, 265 - 300.
- MULINGE, S. K., CHESTERS, C. G. C., 1970:  
Ecology of fungi associated with moist  
stored barley grain.  
*Annls. Appl. Biol.*, 65, 277 - 284.
- O'NEILL, P. A., 1970:  
Observations on a haemorrhagic bowel  
syndrome involving pigs on three associ-  
ated premises.  
*Vet. Rec.*, 87, 742 - 747.
- NICHOLSON, R. L., BAUMAN, L. F., WARREN, H. L., 1976:  
Association of *Fusarium moniliforme* with  
brown midrib maize.  
*Plant Dis. Reptr.*, 60, 908 - 910.
- NILES, E. V., 1976:  
The mycoflora of sorghum stored in under-  
ground pits in Ethiopia.  
*Trop. Sci.*, 18, 115.

PALTI, J., 1978:

Toxigenic Fusaria their distribution and significance as causes of disease in animal and man.

Acta Phytomedica, Heft 6, Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.

PALYUSIK, M., 1977:

Mykotoxikosen

Wien. tierärztl. Mschr., 64, 211 - 220 und 259 - 266.

PALYUSIK, M., KOPLIK-KOVÁCS, É., 1975:

Effect on laying geese of feeds containing the Fusariotoxins T2 and F2.

Acta Vet. Hung., 25, 363 - 368.

PATHRE, V. S., MIROCHA, C. J., 1977:

Assay methods for Trichothecenes and review of their natural occurrence.

In: RODRICKS, J. V., HESSELTINE, C. W., MEHLMANN, M. A., Mycotoxins in human and animal health.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 229 - 253.

PATTERSON, D. S. P., MATTHEWS, J. G., SHREEVE, B. J.,

ROBERTS, B. A., MCDONALD, S. M.,

HAYES, A. W., 1979:

The failure of Trichothecene mycotoxins and whole cultures of Fusarium tricinctum to cause experimental haemorrhagic syndromes in calves and pigs.

Vet. Rec., 105, 252 - 255.

- PETRIE, L., ROBB, J., STEWART, A. F., 1977:  
The identification of T2-toxin on its  
association with the haemorrhagic  
syndrome in cattle.  
Vet. Rec., 101, 326.
- PETTERSSON, H., KIESSLING, K. H., 1979:  
Mycotoxins in swedish grains and mixed feeds.  
30th IUPAC General Assembly, Davos  
(Switzerland) 2nd-10th September 1979.
- PULS, R., GREENWAY, J. A., 1976:  
Fusariotoxycosis from barley in British  
Columbia.  
II. Analysis and toxicity of suspected  
barley.  
Can. J. Comp. Med., 40, 16 - 19.
- RABIE, C. J., LÜBBEN, A., LOUW, A. J., RATHBONE, E. B.,  
STEYN, P. S., VLEGGAAR, R., 1973:  
Moniliiformin, a mycotoxin from *Fusarium*  
*fusarioides*.  
J. Agric. Fd.Chem., 26, 375 - 379.
- RICHARDSON, M. J., 1970:  
Gibberella zeae on oats in Scotland  
1967 - 1969.  
Plant Path., 19, 104 - 106.
- ROLL, H., 1970:  
Toxische und kanzerogene Wirkungen der  
Mykotoxine von Mikroorganismen.  
Bundesgesundheitsblatt, 13, 157 - 165.
- ROSENBERGER, G., 1970:  
Krankheiten des Rindes.  
Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.

- ROSENSTEIN, Y., LAFARGE-FRAYSSINET, C., LESPINATS, G.,  
LOISILLIER, F., LAFONT, P.,  
FRAYSSINET, C., 1979:  
Immunosuppressive activity of Fusarium  
toxins. Effects on antibody synthesis and  
skin grafts of crude extracts, T-2 toxin  
and Diacetoxyscirpenol.  
Immunology, 36, 111 - 117.
- RUKMINI, C., BHAT, R. V., 1978:  
Occurrence of T-2 toxin in Fusarium-infected  
sorghum from India.  
J. Agric. Fd.Chem., 26, 647 - 649.
- SAITO, M., OHTSUBO, K., 1974:  
Trichothecene toxins of Fusarium species.  
In: PURCHASE, I. H. F., Mycotoxins,  
Elsevier Scientific Publishing Co.,  
Amsterdam, Oxford, New York, 262 - 281.
- SAITO, M., TATSUNO, T., 1971:  
Toxins of Fusarium nivale.  
In: KADIS, S., CIEGLER, A., AIJL, S. J.,  
Microbial toxins, Vol. VII, Academic Press,  
New York and London, 293 - 316.
- SARUDI, J., 1974:  
Methode zum Nachweis des Zearalenone  
(F2) Toxins.  
Zentbl. Lebensm. Unters. Forsch., 154, 65 - 66.
- SCHMIDT, W., 1961:  
Anlage und statistische Auswertung von  
Untersuchungen.  
Verlag M. und H. Schaper, Hannover.

- SCOTT, P. M., LAWRENCE, J. W., WALBEEK, W. van, 1970:  
Detection of mycotoxins by thinlayer  
chromatography: Application to screening  
of fungal extracts.  
Appl. Microbiol., 20, 839 - 842.
- SEEMÜLLER, E., 1968:  
Untersuchungen über die morphologische und  
biologische Differenzierung in der Fusarium-  
Sektion Sporotrichiella.  
Mitt. biol. BundAnst. Ld-u.Forstw.,  
127, Berlin - Dahlem.
- SHARMA, V. D., WILSON, R. F., WILLIAMS, L. E., 1974:  
Reproductive performance of female swine  
fed corn naturally molded or inoculated  
with Fusarium roseum, Ohio isolates B and C.  
J. Anim. Sci., 38, 598 - 602.
- SHERWOOD, R. F., PEBERDY, J. E., 1974 a:  
Production of the mycotoxin, Zearalenone,  
by Fusarium graminearum growing on stored  
grain. I. Grain storage at reduced tempera-  
tures.  
J. Sci. Fd.Agric., 25, 1081 - 1087.
- SHERWOOD, R. F., PEBERDY, J. E., 1974 b:  
Production of the mycotoxin, Zearalenone,  
by Fusarium graminearum growing on stored  
grain. II. Treatment of wheat grain with  
organic acids.  
J. Sci. Fd.Agric., 25, 1089 - 1093.
- SHOTWELL, O. L., GOULDEN, M. L., BENNETT, G. A., 1976:  
Determination of Zearalenone in corn:  
Collaborative study.  
J. Ass. Off. Analyt. Chem., 59, 666 - 670.

- SHOTWELL, O. L., GOULDEN, M. L., BENNETT, G. A.,  
PLATTNER, R. D., HESSELTINE, C. W., 1977:  
Survey of 1975 wheat and soybeans for  
Aflatoxin, Zearalenone and Ochratoxin.  
J. Ass. Off. Analyt. Chem., 60, 778 - 783.
- SHOTWELL, O. L., GOULDEN, M. L., BOTHAST, R. J.,  
HESSELTINE, C. W., 1975:  
Mycotoxins in hot spots in grains.  
I. Aflatoxin and Zearalenone occurrence  
in stored corn.  
Cereal Chem., 52, 687 - 697.
- SHOTWELL, O. L., HESSELTINE, C. W., VANDEGRAFT, E. E.,  
GOULDEN, M. L., 1971:  
Survey of corn from different regions for  
Aflatoxin, Ochratoxin, and Zearalenone.  
Cereal Sci. Today, 16, 266 - 273.
- SIEGFRIED, B., 1977:  
Fusarium - Toxine  
Naturwissenschaften, 64, 274.
- SMALLEY, E. B., STRONG, F. M., 1974:  
Toxic trichothecenes  
In: PURCHASE, I. F. H., Mycotoxins,  
Elsevier Scientific Publishing Co.,  
Amsterdam, Oxford, New York, 199 - 228.
- SNYDER, W. C., HANSEN, N. N., 1945:  
The species concept in Fusarium with  
reference to Discolor and other sections.  
Am. J. Bot., 32, 657 - 666.
- SPEERS, G. M., MERONUCK, R. A., BARNES, D. M.,  
MIROCHA, C. J., 1971:  
Effect of feeding Fusarium roseum F. sp.  
graminearum contaminated corn and the my-  
cotoxin F2 on the growing chick and laying Hen.  
Poult. Sci., 50, 627 - 633.

SPICHER, G., 1958:

Einleitende Untersuchungen über die Zusammensetzung der Mikroflora des Getreides.  
Zentbl. Bakt. II. Orig., 111, 237 - 248.

STÄHELIN, H., KALBERER-RÜSCH, M. E., SIGNER, E.,  
LAZÁRY, S., 1968:

Über einige biologische Wirkungen des  
Cytostatikum Diacetoxyscirpenol.  
Arzneimittelforsch., 18, 989 - 994.

STEFANIAK, B., 1969:

Interference of Ethoxyquin in the thin-layer chromatographic estimation of Aflatoxin.  
J. Chromat., 44, 403 - 406.

STOLOFF, L., HENRY, S., FRANCIS, O. J., 1976:

Survey for Aflatoxins and Zearalenone in 1973 crop corn stored on farms and in country elevators.  
J. Ass. Off. Analyt. Chem., 59, 118 - 121.

SZATHMÁRY, C. J., MIROCHA, C. J., PALYUSIK, M.,  
PATHRE, S. V., 1976:

Identification of mycotoxins produced by species of Fusarium and Stachybotrys obtained from Eastern Europe.  
Appl. Envir. Microbiol., 32, 579 - 584.

TAMM, C., 1977:

Chemistry and biosynthesis of Trichothecenes.  
In: RODRICKS, J. V., HESSELTINE, C. W., MEHLMANN, M. A., Mycotoxins in human and animal health. Pathotox Publishers, Inc., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 209 - 228.

THIEL, P. G., 1978:

A molecular mechanism for the toxic action of Moniliformin, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*.  
Biochem. Pharmac., 27, 483 - 486.

TOOKEY, H. L., YATES, S. G., ELLIS, J. J., GROVE, M. D.,  
NICHOLS, R. E., 1972:

Toxic effects of Butenolide mycotoxin and of *Fusarium tricinctum* cultures in cattle.  
J. Am. Vet. Med. Ass., 160, 1522 - 1526.

UENO, Y., 1970:

Inhibition of protein synthesis in animal cells by Nivalenol and related metabolites, toxic principles of rice infested with *Fusarium nivale*.  
Proc. 1st Japan - U.S. Conf. on toxic micro-organisms. (HERZBERG, M., ed.) U.S. Dept. Int., 76 - 79.

UENO, Y., 1977 a:

Trichothecenes: Overview address.  
In: RODRICKS, J. V., HESSELTINE, C. W., MEHLMANN, A. M., Mycotoxins in human and animal health. Pathotox Publishers, Inc., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 189 - 190.

UENO, Y., 1977 b:

Mode of action of Trichothecenes.  
Annls.Nutr. Aliment., 31, 885 - 900.

UENO, Y., ISHII, K., SAKAI, K., KANAEDA, S., TSUNODA, H., TANAKA, T., ENOMOTO, M., 1972 a:  
Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. IV. Microbial survey on "bean-hulls poisoning of horses", with the isolation of toxic Trichothecenes, Neosolaniol and T-2 toxin of *Fusarium solani* M-1-1.  
Jap. J. Exp. Med., 42, 187 - 203.

- UENO, Y., ISHII, K., SATO, N., OHTSUBO, K., 1974:  
Toxicological approaches to the metabolites  
of Fusaria. VI. Vomiting factor from moldy  
corn infected with Fusarium spp.  
Jap. J. Exp. Med., 44, 123 - 127.
- UENO, Y., ISHIKAWA, Y., AMAKAI, K., NAKAJIMA, M.,  
SAITO, M., ENOMOTO, M., OHTSUBO, K., 1970:  
Comparative study on skin - necrotizing  
effect of Scirpene metabolites of Fusaria.  
Jap. J. Exp. Med., 40, 33 - 38.
- UENO, Y., ISHIKAWA, Y., NAKAJIMA, M., SAKAI, K.,  
ISHII, K., TSUNODA, H., SAITO, M.,  
ENOMOTO, M., OHTSUBO, K., UMEDA, M., 1971:  
Toxicological approaches to the metabolites  
of Fusaria. I. Screening of toxic strains.  
Jap. J. Exp. Med., 41, 257 - 272.
- UENO, Y., ISHIKAWA, Y., SAITO-AMAKAI, K., TSUNODA, H.,  
1973 a:  
Comparative toxicology of trichothec  
mycotoxins: Inhibition of protein synthesis  
in animal cells.  
J. Biochem., 74, 285 - 296.
- UENO, Y., SATO, N., ISHII, K., SAKAI, K., ENOMOTO, M.,  
1972 b:  
Toxicological approaches to the metabolites  
of Fusaria. V. Neosolaniol, T-2 toxin and  
Butenolide, toxic metabolites of Fusarium  
sporotrichioides NRRL 3510 and Fusarium  
poae 3287.  
Jap. J. Exp. Med., 42, 461 - 472.

- UENO, Y., SATO, N., ISHII, K., SAKAI, K., TSUNODA, H.,  
ENOMOTO, M., 1973 b:  
Biological and chemical detection of Tricho-  
thecene mycotoxins of Fusarium species.  
Appl. Microbiol., 25, 699 - 704.
- UENO, Y., YAGASAKI, S., 1975:  
Toxicological approaches to the metabolites  
of Fusaria. X. Accelerating effect of Zea-  
ralenone on RNA and protein synthesis in the  
uterus of ovariectomized mice.  
Jap. J. Exp. Med., 45, 199 - 205.
- UOTI, J., YLMÄKI, S., 1974:  
The occurrence of Fusarium species in  
cereal grains in Finland.  
Annls. Agric. Fenn., 13, 15 - 17.
- VESONDER, R. F., CIEGLER, A., JENSEN, A. H., 1977:  
Production of refusal factors by Fusarium  
strains on grains.  
Appl. Envir. Microbiol., 34, 105 - 106.
- VESONDER, R. F., CIEGLER, A., JENSEN, A. H., ROH-  
WEDDER, W. K., WEISLEDER, D., 1976:  
Co-identity of the refusal and emetic  
principle from Fusarium-infected corn.  
Appl. Envir. Microbiol., 31, 280 - 285.
- VESONDER, R. F., CIEGLER, A., ROGERS, R. F.,  
BURBRIDGE, K. A., BOTHAST, R. J.,  
JENSEN, A. H., 1978:  
Survey of 1977 crop year preharvest corn  
for Vomitoxin.  
Appl. Envir. Microbiol., 36, 885.

- WEAVER, G. A., KURTZ, H. J., BATES, F. Y., CHI, M. S.,  
MIROCHA, C. J., BEHRENS, J. C.,  
ROBINSON, T. S., 1978:  
Acute and chronic toxicity of T-2 mycotoxin  
in swine.  
Vet. Rec., 103, 531 - 535.
- WEI, R. D., SMALLEY, E. B., STRONG, F. M., 1972:  
Improved skin test for detection of T-2 toxin.  
Appl. Microbiol., 23, 1029 - 1030.
- WILSON, B. J., MARONPOT, R. R., HILDEBRANDT, P. K., 1973:  
Equine Leukoencephalomalacia.  
J. Am. Vet. Med. Ass., 163, 1029 - 1030.
- WISKOTT, U., 1978:  
Untersuchungen über die immunsuppressive  
Wirksamkeit von Fusarientoxinen.  
Inaug. Diss. Vet. Med. Universität München.
- WOLLENWEBER, H. W., 1932:  
Die Gattung Fusarium.  
In: SORAUER, P., Handbuch der Pflanzen-  
krankheiten, Bd. III. Die pflanzlichen  
Parasiten.  
Paul Parey Verlag, Berlin.
- WOLLENWEBER, H. W., REINKING, O. A., 1935:  
Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schad-  
wirkung und Bekämpfung.  
Paul Parey Verlag, Berlin.
- WYATT, R. D., COLWELL, W. M., HAMILTON, P. B.,  
BURMEISTER, H. R., 1973 a:  
Neural disturbances in chickens caused  
by dietary T-2 toxin.  
Appl. Microbiol., 26, 757 - 761.

- WYATT, R. D., HAMILTON, P. B., BURMEISTER, H. R.,  
1973 b:  
The effects of T-2 toxin in broiler chickens.  
Poult. Sci., 53, 1853 - 1859.
- WYATT, R. D., HAMILTON, P. B., BURMEISTER, H. R. 1975:  
Altered feathering of chicks caused by T-2  
toxin.  
Poult. Sci., 54, 1042 - 1130.
- YAGEN, B., JOFFE, A. Z., 1976:  
Screening of toxic isolates of *Fusarium*  
*poae* and *Fusarium sporotrichioides* involved  
in causing alimentary toxic aleukia.  
Appl. Envir. Microbiol., 32, 423 - 427.
- YATES, S. G., 1971:  
Toxin-producing fungi from fescue pasture.  
In: KADIS, S., CIEGLER, A., AIJL, S. J.,  
Microbial toxins, Vol VII, Academic press,  
New York and London, 191 - 206.
- YATES, S. G., TOOKEY, H. L., ELLIS, J. J., 1970:  
Survey of tall fescue pasture: correlation  
of toxicity of *Fusarium* isolates to known  
toxins.  
Appl. Microbiol., 19, 103 - 105.
- YATES, S. G., TOOKEY, H. L., ELLIS, J. J.,  
TALLENT, W. H., WOLFF, I. A., 1969:  
Mycotoxins as a possible cause of fescue  
toxicity.  
J. Agric. Fd.Chem., 17, 437 - 442.



Frau Prof. Dr. B. Gedek möchte ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung der Arbeit und die mir jederzeit gewährte Aussprache ganz herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. DDr. h. c. A. Mayr danke ich besonders für die mir bereitwillig gewährte Arbeitsmöglichkeit und sein stetes Interesse an meiner Arbeit.

Ebenso möchte ich Herrn Dr. J. Bauer für die stets freundlich gewährte Hilfe danken.



## LEBENS LAUF

=====

Am 28. Dezember 1948 wurde ich, Robert, Gottfried Wermter, als Sohn des Verwaltungsamtmannes Rudolf Wermter und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Höpfner, in München geboren.

Im September 1955 trat ich in die Aloys-Fischer-Volksschule, München ein. 1960 wechselte ich auf das Wittelsbacher Gymnasium, München über, wo ich im Juni 1970 das Abitur ablegte.

Am 1. Oktober 1970 wurde ich zur Ableistung des Grundwehrdienstes zur Bundeswehr eingezogen.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Das Staatsexamen legte ich im Frühjahr 1977 ab und erhielt die Approbation als Tierarzt mit Wirkung vom 29. Juni 1977.

Am 13. Mai 1977 trat ich als Sanitätsoffizier in die Bundeswehr in München ein.

Die vorliegende Arbeit begann ich im Dezember 1977 im Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Seit dem 1. Januar 1979 bin ich an der Veterinär-Untersuchungsstelle der Bundeswehr in Stuttgart beschäftigt.









